

**KARPUZ VE KAVUN ÇEKİRDEKLERİNİN BAZI
PROBİYOTİK BAKTERİLERİN GELİŞMESİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN *in vitro* İNCELENMESİ**

Şengül TEKSOY



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARPUZ VE KAVUN ÇEKİRDEKLERİNİN BAZI PROBİYOTİK
BAKTERİLERİN GELİŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN *in vitro* İNCELENMESİ**

Şengül TEKSOY
0000-0001-7262-8786

Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

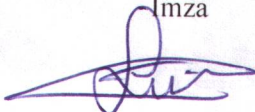
BURSA – 2020

TEZ ONAYI

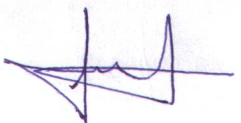
Şengül TEKSOY tarafından hazırlanan “Karpuz ve Kavun Çekirdeklerinin Bazı Probiyotik Bakterilerin Gelişmesi Üzerine Etkisinin İn vitro İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN

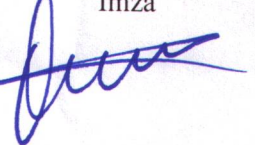
Başkan : Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN
0000-0001-9588-6200
Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza


Üye : Prof. Dr. Tülay ÖZCAN
0000-0002-0223-3807
Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İmza


Üye : Doç. Dr. Oktay TOMAR
0000-0001-5761-7157
Kocaeli Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri
Fakültesi,
Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı

İmza


Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü
07/09/2020

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

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

beyan ederim.

07/09/2020

İmza

Şengül TEKSOY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARPUZ VE KAVUN ÇEKİRDEKLERİNİN BAZI PROBİYOTİK BAKTERİLERİN GELİŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN *in vitro* İNCELENMESİ

Şengül TEKSOY

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN

Bu çalışmada, karpuz ve kavun çekirdeklerinin *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*'nin gelişmesi üzerindeki etkisi *in vitro* fermantasyon ortamında belirlenmiştir. *Bifidobacterium* türleri için karbonhidrat içermeyen TPY sıvı besiyeri ve *Lactobacillus* türleri için ise karbonhidrat içermeyen MRS sıvı besiyeri bazal gelişme ortamı olarak kullanılmıştır.

En yüksek pH değeri negatif kontrol örneğinde saptanırken (6.99), en düşük pH değeri (3.54) glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. En yüksek OD değeri (2.281) glikoz içeren örnekte saptanmıştır. Fermantasyon süresince en yüksek mikroorganizma sayısı (10.30 kob/mL) karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmıştır. Substrat türleri arasında en yüksek PAS değeri (1.54) karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmıştır.

Glikoz (8.69 g/L), galaktoz (21.77 g/L), fruktoz (21.19 g/L) ve sukroz (13.42 g/L) değerleri *Lb. acidophilus* türünün geliştiği ortamlarda en yüksek olarak saptanmıştır. *B. bifidum* türünün geliştiği ortamda ksiloz miktarı (3.46 g/L) en yüksek miktarda belirlenmiştir.

Asetik (89.722 ppm), propiyonik (4.778 ppm) ve bütirik asit (1.303 ppm) değerleri *Lb. acidophilus* türünün geliştiği ortamlarda en yüksek olarak saptanmıştır. *Lb. casei* türünün geliştiği ortamda laktik asit (1594.280 ppm) en yüksek olarak belirlenmiştir.

Karpuz ve kavun çekirdeğinin probiyotik bakterilerin gelişmesi/aktivitesi üzerine olumlu etki gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar, bu substratların potansiyel prebiyotik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Karpuz çekirdeği, kavun çekirdeği, probiyotik bakteri

2020, ix + 120 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

***In vitro* EVALUATION of EFFECT WATERMELON and MELON SEEDS on the GROWTH of PROBIOTIC BACTERIA**

Şengül TEKSOY

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

Supervisor: Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN

In this study, the effect of melon and watermelon seed on the development of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* in vitro fermentation medium was investigated. Carbohydrate-free TPY broth for *Bifidobacterium* spp. and carbohydrate-free MRS broth for *Lactobacillus* spp. were used as basal growth media.

The highest pH value was determined in the negative control sample (6.99), while the lowest pH value (3.54) was found in the medium containing glucose. The highest OD value (2.281) was determined in the sample containing glucose. During the fermentation the highest number of microorganisms (10.30 cfu/mL) was determined in the medium containing watermelon seed. Among the substrate types, the highest PAS value (1.54) was determined in the medium containing watermelon seed.

The amounts of glucose (8.69 g/L), galactose (21.77 g/L), fructose (21.19 g/L) and sucrose (13.42 g/L) were stated to be highest in the medium inoculated with *Lb. acidophilus*. The amount of xylose (3.46 g/L) was determined to be the highest in the medium inoculated with *Lb. casei*.

The amounts of acetic (89.722 ppm), propionic (4.778 ppm) ve butyric acid (1.303 ppm) were determined to be highest in the medium inoculated with *Lb. acidophilus*. The amount of lactic acid (1594.280 ppm) was determined to be the highest in the medium inoculated with *Lb. casei*.

It was stated that whole watermelon and melon seed had a positive effect on the growth/activity probiotics. The results demonstrated that these substrates have potential prebiotic properties.

Key words: Watermelon seed, melon seed, probiotic bacteria

2020, ix + 120 pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN danışmanlığında tarafımda hazırlanmış, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur. Çalışmada kavun ve karpuz çekirdeklerinin prebiyotik potansiyellerinin *in vitro* koşullarda incelenmesi hedeflenmiştir.

Tecrübesi ve bilgi birikimiyle, tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi konusunda ilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Lütfiye YILMAZ ERSAN'a en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi geliştirme aşamalarımda değerli bilgileri ve sağladıkları laboratuvar imkanları ile yardımcı olan Prof. Dr. Tülay ÖZCAN, Doç. Dr. Arzu AKPINAR-BAYİZİT ve Araş. Gör. Özüm ÖZOĞLU'na, ayrıca çalışmalarım sırasındaki yardımları için sevgili arkadaşlarım Merve Begüm ÖZYÜREK, Gizem SUNA, Merve DEMİRAY TEYMUROĞLU ve İlay BENGÜ'ye teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda desteklerini hissettiğim babam Mustafa ÖZÇELİK ve annem Gülfer ÖZÇELİK'e, sevgili kardeşim Melih ÖZÇELİK'e, tez çalışmamın başarıya ulaşmasında büyük paya sahip olan sevgili eşim Mehmet Akif TEKSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi anneme ve babama ithaf ediyorum.

Şengül TEKSOY

Yüksek Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Gastrointestinal Sistem Mikrobiyotası	5
2.2. Probiyotikler.....	10
2.2.1. Laktik Asit Bakterileri.....	14
2.2.2. Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	18
2.2.3. Probiyotiklerin Canlılığını Etkileyen Faktörler	22
2.3. Prebiyotikler.....	23
2.3.1. Prebiyotiklerin Ticari Ölçekte Üretimi	30
2.3.2. Prebiyotiklerin Gıdalarda Kullanımı.....	32
2.3.3. Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	33
2.4. Simbiyotikler.....	34
2.5. Karpuz ve Ürünlerinin Beslenmedeki Önemi	35
2.6. Kavun ve Ürünlerinin Beslenmedeki Önemi.	38
2.7. Meyve Çekirdeklerinin Prebiyotik Potansiyeline Yönelik Yapılan Çalışmalar ...	40
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	45
3.1. Materyal	45
3.2. Yöntem.....	45
3.2.1. Mikroorganizmaların Aktivasyonu	45
3.2.2. Karpuz Çekirdeği ve Kavun Çekirdeği İçeren Besi Ortamının Hazırlanması	47
3.2.3. Fermantasyon Süresince Uygulanan Analizler	51
3.3. Gelişme Oranı	52
3.4. Prebiyotik Aktivite Sayısı	52
3.5. Şeker Bileşenleri Analizi.....	53
3.6. Laktik Asit ve Kısa Zincirli Yağ Asiti Bileşenleri Analizi	55
3.7. İstatistiksel Analizler.....	57
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	58
4.1. pH Değeri.....	58
4.2. Hücre Yoğunluğu (OD)	65
4.3. Mikroorganizma Sayısı	73
4.4. Gelişme Oranı.....	81
4.5. Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS).....	82
4.6. Şeker Bileşenleri.....	85
4.7. Laktik Asit ve Kısa Zincirli Yağ Asitleri.....	94
5. SONUÇ.....	101
KAYNAKLAR.....	115
ÖZGEÇMİŞ.....	120

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
$\log_{10}$	10 tabanında logaritma
ssp	Alt tür
dk	Dakika
g	Gram
g.s	Gramsaniye
KJ	Kilo joule
kDa	Kilo dalton
kg	Kilogram
kcal	Kilokalori
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
μ s	Mikrosaniye
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Milyonda bir
nm	Nanometre
cps	Saniyedeki dönüş sayısı
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
%	Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Gastrointestinal sistemin anatomisi ve burada kolonize olmuş bakteri türleri..7	
Şekil 2.2. İdeal bir probiyotik mikroorganizmanın sahip olması gereken özellikler ve ticarileştirme süreci 12	12
Şekil 2.3. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizma türleri 13	13
Şekil 2.4. Probiyotiklerin enfeksiyon kontrolü ve hastalık tedavisindeki etkileri 20	20
Şekil 2.5. Probiyotiklerin gastrointestinal sistemde ve gıdalarda canlılığını etkileyen faktörler 23	23
Şekil 2.6. Prebiyotiklerin tanımlanmasında zaman içerisinde oluşan değişiklikler ve prebiyotik ingredientler 26	26
Şekil 2.7. Bir bileşenin "prebiyotik" olarak sınıflandırılabilmesi için uygulanan işlem süreci 28	28
Şekil 2.8. Bir substratın prebiyotik etkisinin belirlenebilmesi amacıyla uygulanan eşitlikler 30	30
Şekil 2.9. Prebiyotiklerin doğal kaynaklardan elde edilmesinde kullanılan yöntemler .. 32	32
Şekil 2.10. Karpuzun taksonomik sınıflandırılması 35	35
Şekil 2.11. Kavunun taksonomik sınıflandırılması 38	38
Şekil 3.1. <i>Lactobacillus</i> ve <i>Bifidobacterium</i> türleri tarafından karpuz çekirdeği ve kavun çekirdeği fermantasyonuna ait deneme deseni 50	50
Şekil 3.2. Glikoz standardına ait kalibrasyon grafiği 53	53
Şekil 3.3. Galaktoz standardına ait kalibrasyon grafiği 54	54
Şekil 3.4. Fruktoz standardına ait kalibrasyon grafiği 54	54
Şekil 3.5. Sukroz standardına ait kalibrasyon grafiği 54	54
Şekil 3.6. Ksiloz standardına ait kalibrasyon grafiği 55	55
Şekil 3.7. Laktik asit standardına ait kalibrasyon grafiği 56	56
Şekil 3.8. Asetik asit standardına ait kalibrasyon grafiği 56	56
Şekil 3.9. Propiyonik asit standardına ait kalibrasyon grafiği 57	57
Şekil 3.10. Bütirik asit standardına ait kalibrasyon grafiği 57	57
Şekil 4.1. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. casei</i> 'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 59	59
Şekil 4.2. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. acidophilus</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 60	60
Şekil 4.3. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. lactis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 61	61
Şekil 4.4. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. infantis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamında pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 63	63
Şekil 4.5. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. bifidum</i> 'un farklı substarlar içeren besi ortamında pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 64	64
Şekil 4.6. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. casei</i> 'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 66	66
Şekil 4.7. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. acidophilus</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 67	67
Şekil 4.8. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. lactis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 68	68
Şekil 4.9. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. infantis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri 69	69

Şekil 4.10. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. bifidum</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	70
Şekil 4.11. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>Lb. casei</i> 'ye ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	73
Şekil 4.12. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>Lb. acidophilus</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	75
Şekil 4.13. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. lactis</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	76
Şekil 4.14. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. infantis</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	77
Şekil 4.15. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. bifidum</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	79
Şekil 4.16. <i>Lactobacillus</i> ve <i>Bifidobacterium</i> türleri için prebiyotik aktivite sayısı (PAS).....	83
Şekil 4.17. Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen glikoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	87
Şekil 4.18. Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen fruktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	88
Şekil 4.19. Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen galaktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	89
Şekil 4.20. Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen ksiloz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	90
Şekil 4.21. Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen sukroz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	91

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Karpuz ve kavun çekirdeğinin bileşimi	3
Çizelge 2.1. Probiyotik fermente sütlerin üretiminde kullanılan bazı <i>Bifidobacterium</i> suşlarının karakteristik özellikleri	19
Çizelge 2.2. Mikrobiyota alanında probiyotikler ile ilişkili kullanılan tanımlamalar	21
Çizelge 2.3. Prebiyotik testi için <i>in vitro</i> sistemler	27
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan probiyotik mikroorganizmalar	45
Çizelge 3.2. Mikroorganizmaların aktivasyonu için kullanılan bazal gelişme besiyeri	46
Çizelge 3.3. Tripton Pepton Maya Ekstraktı (TPY) ve De Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) sıvı besiyerlerinin bileşimi	47
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan karpuz çekirdeği ve kavun çekirdeğinin bileşimi	47
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan inulinin özellikleri	49
Çizelge 4.1. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. casei</i> 'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri	58
Çizelge 4.2. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. acidophilus</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri	60
Çizelge 4.3. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. lactis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri	61
Çizelge 4.4. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. infantis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri	62
Çizelge 4.5. 48 saatlik fermantasyon <i>B. bifidum</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri	64
Çizelge 4.6. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. casei</i> 'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri	65
Çizelge 4.7. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>Lb. acidophilus</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri	67
Çizelge 4.8. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. lactis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri	68
Çizelge 4.9. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. infantis</i> 'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri	69
Çizelge 4.10. 48 saatlik fermantasyon süresince <i>B. bifidum</i> 'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri	70
Çizelge 4.11. pH ve OD analizlerine ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları	72
Çizelge 4.12. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>Lb. casei</i> 'ye ait mikroorganizma sayısı ($\log_{10}$ kob/mL)	73
Çizelge 4.13. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>Lb. acidophilus</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ($\log_{10}$ kob/mL)	74
Çizelge 4.14. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. lactis</i> 'e ait mikroorganizma sayısı ($\log_{10}$ kob/mL)	76
Çizelge 4.15. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. infantis</i> 'e ait mikroorganizma sayısı ($\log_{10}$ kob/mL)	77
Çizelge 4.16. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki <i>B. bifidum</i> 'a ait mikroorganizma sayısı ($\log_{10}$ kob/mL)	78

Çizelge 4.17. Mikroorganizma sayılarına ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları	80
Çizelge 4.18. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarındaki bakteri türlerine ait gelişme oranları	82
Çizelge 4.19. Prebiyotik aktivite sayılarına ait substrat türleri ile bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları.....	84
Çizelge 4.20. Farklı bakteri türlerine ait farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermantasyonun başlangıcında ve sonunda saptanan şeker bileşenleri değerleri (g/L) ..	86
Çizelge 4.21. Şeker bileşenlerine ait substrat türleri, bakteri türleri, fermantasyon süreleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları.....	92
Çizelge 4.22. Farklı bakteri türlerine ait farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermantasyon sonunda saptanan laktik asit ve KZYA değerleri (ppm)	96
Çizelge 4.23. Farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermantasyon sonunda üretilen laktik asit ve KZYA değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları	98
Çizelge 4.24. Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerine ait substrat türleri, bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları.....	99

1. GİRİŞ

Son yıllarda sosyo-ekonomik gelişmenin sağlanabilmesi amacı ile hastalıkların tedavisinin yanı sıra sağlığın korunması ve geliştirilmesi için besin ve beslenme politikaları oluşturulmaktadır. Bu politikalar, beslenme bilimi ile yeterli ve dengeli beslenmenin yanı sıra insan sağlığına olumlu etkisi olduğu kanıtlanan “fonksiyonel gıda” kavramının ortaya çıkmasını sağlamıştır. “Fonksiyonel gıda” günlük beslenme için gerekli olan bileşenleri içermesinin yanı sıra sağlık üzerine olumlu etkileri kanıtlanmış biyoaktif bileşenleri de içeren gıda olarak tanımlanmaktadır. Fonksiyonel gıdalar; i) fonksiyonel bileşen içeren doğal gıda, ii) fonksiyonel bileşen katkılı, iii) istenmeyen bir bileşiği çıkartılan gıda olarak sınıflandırılmaktadır. Probiyotikler, prebiyotikler, fitokimyasallar, mikroalgler, çoklu doymamış yağ asitleri ve sülfür içeren bileşenler ise yeni nesil gıda formülasyonlarında en fazla kullanılan fonksiyonel bileşenler olarak kabul görmektedir. Özellikle beslenme ve mikrobiyota arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmalar, probiyotik, prebiyotik ve simbiyotikler gibi fonksiyonel bileşenlerin tüketilmesi ile bağırsağın yararlı mikrobiyotasının modifiye edilmesi sonucu birçok hastalığın önlenebileceğini ya da tedavi edilebileceğini göstermektedir (Ross ve ark. 2000, Grajek ve ark. 2005, Del Castillo ve ark. 2018).

Probiyotikler “yeterli miktarda alındığında konakçının sağlığı üzerinde yararlı etki sağlayan canlı mikroorganizmalar”, prebiyotikler ise “beslenme yoluyla alınarak, sindirilmeden kolon bölgesine kadar ulaşabilen kolonda seçici bakteriler tarafından fermente edilebilen gıda bileşenleri”dir (Hanson ve ark. 1999, Yağcı 2002, O’Flaherty ve ark. 2010, Heydari ve ark. 2011, Anandharaj ve ark. 2018). Simbiyotik terimi ise “probiyotik ve prebiyotik kombinasyonunu” ifade etmekte olup probiyotik ve prebiyotiğin tek başına göstereceği etkiden daha fazla olumlu etki göstererek bağırsak mikrobiyotasında probiyotik bakterilerin kolonizasyonunu destekleyen ürünleri ifade etmektedir (Al-Ghazzewi ve ark. 2007, Gibson ve Roberfroid 2008, Roberfroid ve ark. 2010).

Günümüzde prebiyotik özelliğe sahip gıda bileşenlerinden çoğu inulin bazlı frukto oligomerler ya da galaktooligosakkarit bileşikleridir. Bu bileşikler bal ve süt gibi hayvansal ürünler, tahıllar, baklagiller, hindiba gibi sebzeler, ejderha ve krikto meyvesi gibi birçok gıdalardan biyokimyasal ya da enzimatik olarak üretilebilmektedir.

Son yıllarda şeker, diyet lifi, organik asit ve biyoaktif bileşenler gibi önemli besin elementlerini içeren tarımsal yan ürünlerden prebiyotiklerin üretilmesine yönelik çalışmalar artış göstermektedir. Bu amaçla, meyve-sebze kabuk ve çekirdekleri ile tahıl ürünlerinin hasadından sonra tarlada kalan atıklarının prebiyotik potansiyeline yönelik araştırmalar *in vitro* ve *in vivo* olarak yapılmaktadır (Ayichew ve ark. 2017, Yılmaz-Ersan ve ark. 2018).

Karpuz, dünyanın çeşitli tropikal, yarı tropikal ve sert bölgelerinde yetiştirilen ekonomik değeri olan tek yıllık bir sebze türüdür. Karpuz, çiçekli bitkilerin *Cucurbitaceae* (kabakgiller) familyası, *Citrullus* cinsine ait'dir. Kabakgiller familyası içerisinde karpuz (*Citrullus lanatus*), kavun (*Cucumis melo*), hıyar (*Cucumis sativus*) ve kabaklar (*Cucurbita pepo*, *C. moschata* ve *C. maxima*) en önemli türlerdir. Dört adet alt türü olmakla birlikte ekonomik olarak en önemli türleri, *Citrullus lanatus* (syn. *C. vulgaris*) ve *C. colocynthis* olarak belirtilmektedir. Dünyada sebze üretimi için ayrılan toprağın % 6.8'ni karpuz yetiştiriciliğinin oluşturduğu bildirilmektedir. FAO 2018 verilerine göre karpuz üretiminde ülke sıralaması Çin (79.2 milyon ton) başta olmak üzere İran (4.0 milyon ton), Türkiye (4.0 milyon ton), Brezilya (2.3 milyon ton) ve Özbekistan (2.0 milyon ton) olarak bildirilmektedir. Türkiye 863 bin ha alan ve yaklaşık 4 milyon ton karpuz miktarı ile dünya sıralamasında birinci, İran ise ikinci olarak yer almaktadır. Türkiye'de, karpuzun üretim ve tüketim oranı ile ekonomideki önemi değerlendirildiğinde tahıl ürünleri içerisinde domatesten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Karpuz meyve biyokütlesinin % 68'ini meyve, % 30'unu kabuk ve % 2'sini çekirdek (tohum) oluşturmaktadır. Karpuz, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve suyu, alkollü içecek, şurup, turşu, reçel, konserve, pasta, dondurma üretimi ile soslar ve salatalarda da kullanılmaktadır. Özellikle karpuz kabuklarının, gıda, farmokoloji ve kozmetik sektöründe kullanımında artış görülmektedir. Almanya, Fransa, İtalya ve Yunanistan Türkiye'den karpuz ve kavun kabuğu ithal eden ülkeler olarak yer almaktadır. Ortadoğu, Arap ve Asya bölgelerinde tuzlama ve kavurma sonrası atıştırılabilir çerez olarak kullanılan karpuz çekirdeğinin, üretim ve tüketiminin Türkiye'de de yaygınlaştığı görülmektedir. Hindistan ve bazı Afrika ülkelerinde ise çekirdekler bitkisel yağ üretiminde ve un olarak ekmek yapımında değerlendirilmektedirler. (Oseni ve Okoye 2013, Rahman ve ark. 2013, Wani ve ark. 2014).

Kavun botanik olarak *Dicotyledoneae* sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyası içerisinde yer alan *Cucumis* cinsinin bir üyesidir. Günümüzde yetiştiriciliği yapılan kavunun sistematik adı *Cucumis melo*'dur. Dünya'da birçok bölgede geniş alanda yetiştiriciliği yapılan kavunun Çin, Türkiye, İran, Mısır ve Hindistan başta olmak üzere birçok ülkede üretimi yapılmaktadır. Türkiye sahip olduğu değerli kavun genetik kaynakları nedeni ile dünyada kavun üretimi (1.854.356 ton) sıralamasında Çin'den (16.009.584 ton) sonra ikinci büyük kavun üreticisi konumundadır (FAO 2018). Kavun kullanım alanları bakımından değerlendirildiğinde taze olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve suyu, reçel, dondurma, meyveli yoğurt, pasta, daha olgunlaşmamış meyvelerinden turşu gibi gıda sanayiinin farklı üretim kollarında da kullanılmaktadır. Gıda sanayiinin dışında kavunun parfüm, şampuan gibi kozmetik sanayiinde de kullanımı oldukça yaygındır. Kavun çekirdekleri başta yağ üretiminde olmak üzere, tıp, kozmetik ve çeşitli geleneksel içeceklerin hammaddesi olarak gıda alanlarında kullanılmaktadır. Kavun çekirdeği geleneksel içeceklerine örnek olarak; Nijerya ve İran' da yapılan "Melon Milk" (Kavun Sütü), Seferad Yahudileri tarafından yapılan "Pepitada", Güney Amerika'da yapılan "Melon Seed Drink" (Kavun Çekirdeği İçeceği) yer almaktadır. Türkiye'de ise Tunceli ve Elazığ bölgesinde yetişen "kır kavunu (kultik)" nun taze olarak tüketilmesinin yanı sıra çekirdeği çerez olarak, kavru olarak birçok unlu mamullerde, pestil üretiminde ve ayrıca içli köfte gibi bazı yemeklerde kullanılmaktadır (Arıgöl 2012).

Karpuz ve kavun çekirdeği özellikle glutensiz diyetlerde önerilen özel gıdalar arasında yer almaktadır. Son yıllarda birçok gıdanın üretiminde kullanılabilen karpuz ve kavun çekirdeğinin bileşimi Çizelge 1.1'de yer almaktadır (Arıgöl 2012).

Çizelge 1.1. Karpuz ve kavun çekirdeğinin bileşimi

	<i>Karpuz Çekirdeği</i>	<i>Kavun Çekirdeği</i>
<i>Protein (g)</i>	31.9	32.55
<i>Diyet lif (g)</i>	8.2	6.15
<i>Karbonhidrat (g)</i>	4.4	58.43
<i>Yağ (g)</i>	57.1	29.00
<i>Kalsiyum (mg)</i>	7.50	11.0
<i>Demir (mg)</i>	4.30	0.3
<i>Fosfor (mg)</i>	456	-

Yukarıdaki açıklamaların ışığı altında hazırladığımız bu çalışmanın öncelikli hedefleri;

- *Lactobacillus* (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*) ve *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum*) türlerinin kavun ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamında gelişme yeteneklerinin incelenmesi,
- Kavun ve karpuz çekirdeği içeren ortamda prebiyotik aktivite sayılarının belirlenmesi,
- *In vitro* fermantasyon sırasında karbonhidratların kullanılabilirliğini saptamak amacıyla şeker bileşenlerinin (glikoz, galaktoz, früktoz, sukroz ve ksiloz) belirlenmesi,
- Prebiyotik özellik gösteren karbonhidratların probiyotik bakterilerce fermente olabilme yeteneğinin göstergesi olan laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarlarının belirlenmesidir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

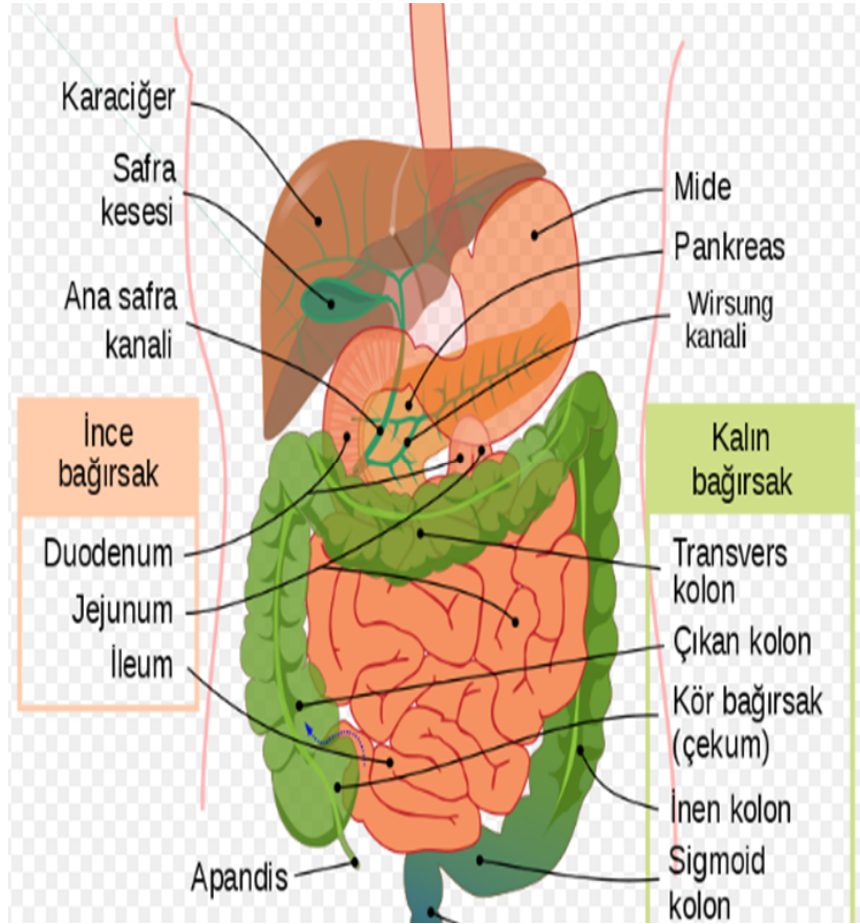
2.1. Gastrointestinal Sistem Mikrobiyotası

Mikrobiyota, insan vücudunda yaşayan ve insan hücresi olmayan, bedenimizi paylaşan kommensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların (bakteri, arkea, virüs, mantar ve diğer tek hücreli ökaryotlar) oluşturduğu ekolojik topluluk, mikrobiyom ise bu çevrede yaşayan mikroorganizmaların toplam genomu olarak tanımlanmaktadır. İnsan vücudunda bulunan mikroorganizma sayısının tüm vücudu oluşturan hücre sayısının en az on katı kadar (% 10'u insan hücresi, % 90'ı makroskopik hücre= 10^{14} mikroorganizma) olduğu tahmin edilmektedir. İnsan mikrobiyotasında 500'den fazla tür içerisinde bakteriler dominant durumda olmakla birlikte virüsler, funguslar ve birçok ökaryotik mikroorganizma da yer almaktadır. Dominant olarak bulunan bakteriler içerisinde % 64 oranında *Firmicutes* (*Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Roseburia*, *Anaerostipes*, *Faecalibacterium*), % 23 oranında *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Xylanibacter*), % 3 oranında *Actinobacteria* (*Collinsella* ve *Bifidobacterium*) ve % 8 oranında *Proteobacteria* (*Escherichia* ve *Desulfovibrio*), *Archaea* (*Euryarchaeota* ve *Methanobrevibacter*), *Verrucomicrobia* (*Akkermansia muciniphila*) yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar dış çevre ile teması bulunan deri, ağız boşluğu, solunum sistemi, ürogenital ve gastrointestinal sistem gibi vücut bölümlerinde kolonize olabilmektedirler. Mikrobiyota içinde özellikle gastrointestinal sistem mikrobiyotası, en yoğun kolonizasyonun olduğu ve tüm insan genomundan yaklaşık 150 kat daha fazla gen taşıyan önemli organları içermektedir (Belkaid ve Hand 2014, Ursell ve ark. 2014, Muñoz-Garach ve ark. 2016, Sender ve ark. 2016).

Gastrointestinal sistem (GİS) ağız, ağız boşluğu, yemek borusu (özofagus), mide, oniki parmak bağırsağı (duodenum), jejunum, ileum, çekum, kolon ve rektumdan oluşan bir ekosistemdir. GİS mikrobiyotası, fetüsün plasenta sıvısını yutması ile ya da doğumda annenin vajinası veya derisi aracılığıyla karşılaştığı ilk çevresel mikroorganizmalardan ve emzirme döneminde sütün içerdiği mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Vajinal doğum gerçekleştiren annelerin bebeklerinin mikrobiyotası annelerinin vajinalarının mikrobiyotasına benzer olduğu ve *Lactobacillus* türlerinin dominant olduğu saptanmıştır. Ayrıca sezeryan ile doğan bebeklerin mikrobiyotasından oldukça farklı ve daha yüksek çeşitliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bireye özgü mikrobiyotanın tam olarak netleşmesi

ve yetişkin kompozisyonuna dönüşmesi doğumdan sonraki 18 ile 24 ay içerisinde gerçekleşmektedir (Scott ve ark., Gratz, Sheridan, Flint ve Duncan 2013, Sommer ve Bäckhed 2013, Hollister ve ark. 2014, Tanaka ve Nakayama 2017).

Gastrointestinal mikrobiyota yaşamın ilk yılında kazanılan ve intestinal lümende kalıcı olan doğal türlerden, çevresel kaynaklardan alınan ve geçici olarak gastrointestinal sistemde kolonize olan mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Özellikle bağırsak mikrobiyotası, çok fazla sayıda mikroorganizma popülasyonuna sahip tek başına bir organ olarak düşünülmektedir. Mikrobiyotanın çeşitliliği mideden kolona çok fazla değişkenlik göstermektedir. Bu mikrobiyota vücut içerisinde en fazla sayıda ve çeşitlilikte bakteri içermektedir. Bağırsak mikrobiyotasının % 90'ından fazlasını *Bacteroidetes* ile *Firmicutes*ler oluşturmakta olup, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia* ailesine ait bakteriler de bulunmaktadır. Bu bakteriler içerisinde *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* ve *Fusobacterium* cinslerine ait zorunlu anaeroblar, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* ve *Proteus* gibi fakültatif anaeroblara göre daha fazla sayıda bulunmaktadırlar. GİS mikrobiyotasında bakterilerin yanı sıra mantarlar, virüsler ve diğer ökaryotik türler de yer almaktadır. Gastrointestinal sistemin anatomisi ve burada kolonize olmuş bakteri türleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi bakteriler, düşük pH ve hızlı geçiş nedeni ile midede yüksek sayıda kolonize olamamaktadırlar. Duedonum (oniki parmak bağırsağı) asidik ortamı, pankreas ve safra salgıları nedeni ile bakterilerin kolonize olabilmesi için uygun bir ortam değildir. Jejunum ve ileuma doğru bakteri sayısında ve çeşitliliğinde kademeli bir artış bulunmakta ve kalın bağırsak en fazla tür ve sayıda bakteri içermektedir (Prakash ve ark. 2011, The Human Microbiome Project C, 2012, Shen ve ark. 2013, Muñoz-Garach ve ark. 2016).



Organ	Özellikleri	Sindirim süresi ve özellikleri	Mikroorganizmalar
Mide	HCl, pepsin ve amilaz pH:1-2	20 dk- 3sa. Gıdaların depolanması ve sindirimi Peristalsis (kasılma)	10^1 - 10^3 kob mL ⁻¹ <i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>Fusobacteria</i>
İnce bağırsak (Duodenum ve jejunum)	Pankreatik enzimler, Bikarbonat ve safra tuzları pH:5.-6.4	2 sa.- 4sa. Minerallerin ve karbonhidratların absorpsiyonu, Peristalsis, α-Defensins (Paneth hücreleri), β-Defensins	10^1 - 10^4 kob mL ⁻¹ <i>Lactobacillus</i> ssp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
İnce bağırsak (İleum)	pH: 7.3-7.7		10^7 kob mL ⁻¹ <i>Enterobacteria</i> <i>Enterococcus</i> <i>Bacteroides</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i>
Kalın bağırsak (çekum ve kolon)	Bikarbonat ve mukus pH:5.7-6.8	24 sa. – 72 sa. Minerallerin ve suyun absorpsiyonu, yavaş peristalsis, Düşük redoks potansiyeli, Kompleks karbonhidratlar, β-Defensins	10^{12} kob mL ⁻¹ <i>Bacteroidetes</i> <i>Eubacterium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Pepstreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i>

Şekil 2.1. Gastrointestinal sistemin anatomisi ve burada kolonize olmuş bakteri türleri

GİS mikrobiyotası konak üzerinde birçok metabolik, nutrisyonel ve immünolojik etkilerde bulunmaktadır. Bu etkilerin bazıları aşağıda verilmiştir.

- Besin öğelerinin sindiriminin sürdürülmesi,
- Vitaminlerin (B₁₂, K, B₁, B₂, B₆, H, pantotenik ve folik asit gibi) üretimi,
- Kısa zincirli yağ asidi (KZYA; asetat, bütirat, propiyonat), konjuge linoleik asit üretimi
- Protein ve peptitlerin anaerobik metabolizması,
- Safra asitlerinin biyotransformasyonu,
- Mikrobesein öğelerinin sentezi, fermentasyonu ve mukus oluşumu,
- Antimikrobiyal maddelerin salınımı,
- Bazı elektrolitlerin ve iz elementlerin emilimi (kalsiyum, magnezyum ve demir gibi)
- Amonyak sentezi ve detoksifikasyonu,
- Diyetle alınan toksinlerin ve karsinojenlerin yıkımı,
- Kolonizasyonun patojenlerin istilasına karşı direnci,
- İnflamatuvar sitokinlerin regülasyonu ile doğuştan ve adapte edilen bağışıklık aktivitelerinin gelişimi,
- Bağışıklık sisteminin gelişimi,
- Epitel hücre büyümesi ve farklılaşmasının regülasyonu,
- İntestinal villusların gelişimi,
- Enerji metabolizmasını, yağ depolamasını düzenleme,
- İntestinal permeabiliteyi düşürme,
- Sindirilemeyen polisakkaritlerin parçalanması.

Son yıllarda mikrobiyotanın inflamasyon, insülin direnci, gıdalardan enerji ekstraksiyonu, gen ekspresyon değişiklikleri, enerji tüketimi ve depolanması, bağırsak hormon üretim dengesinin sağlanması, bağırsak geçirgenliğinin ve bakteriyel çeşitliliğin farklılaşması gibi metabolik fonksiyonları da olduğu bildirilmektedir (Lozupone ve ark. 2012, Sommer ve Bäckhed 2013, Marchesi ve ark. 2015, Tunçkanat 2016).

GİS mikrobiyotası kişiden kişiye farklılık ve çeşitlilik göstermektedir. Mikrobiyotanın kalitatif ve kantitatif kompozisyonu coğrafi köken, genotip, doğum şekli, bireyin gelişimi, yaş, yaşam tarzı, beslenme, ilaç kullanımı, ruhsal ve mental sağlık durumu gibi kişinin yaşamı boyunca değişen endojen ve ekzojen faktörlerden etkilenmektedir. Son yıllarda bu faktörlerden “Holobiont” olarak tanımlanan konağın genleri ile mikroorganizmalar arasındaki etkileşim üzerine dikkat çekilmektedir. Konağın genlerinin mikrobiyomu şekillendirmesi ve mikrobiyotanın da konağın gen ekspresyonunu düzenlemesi sonucu ortaya çıkan konak-mikroorganizma ilişkisindeki genetik varyasyonlar GİS mikrobiyotasını direkt olarak etkileyebilmektedir (Gerritsen ve ark. 2011, Blekhman ve ark. 2015).

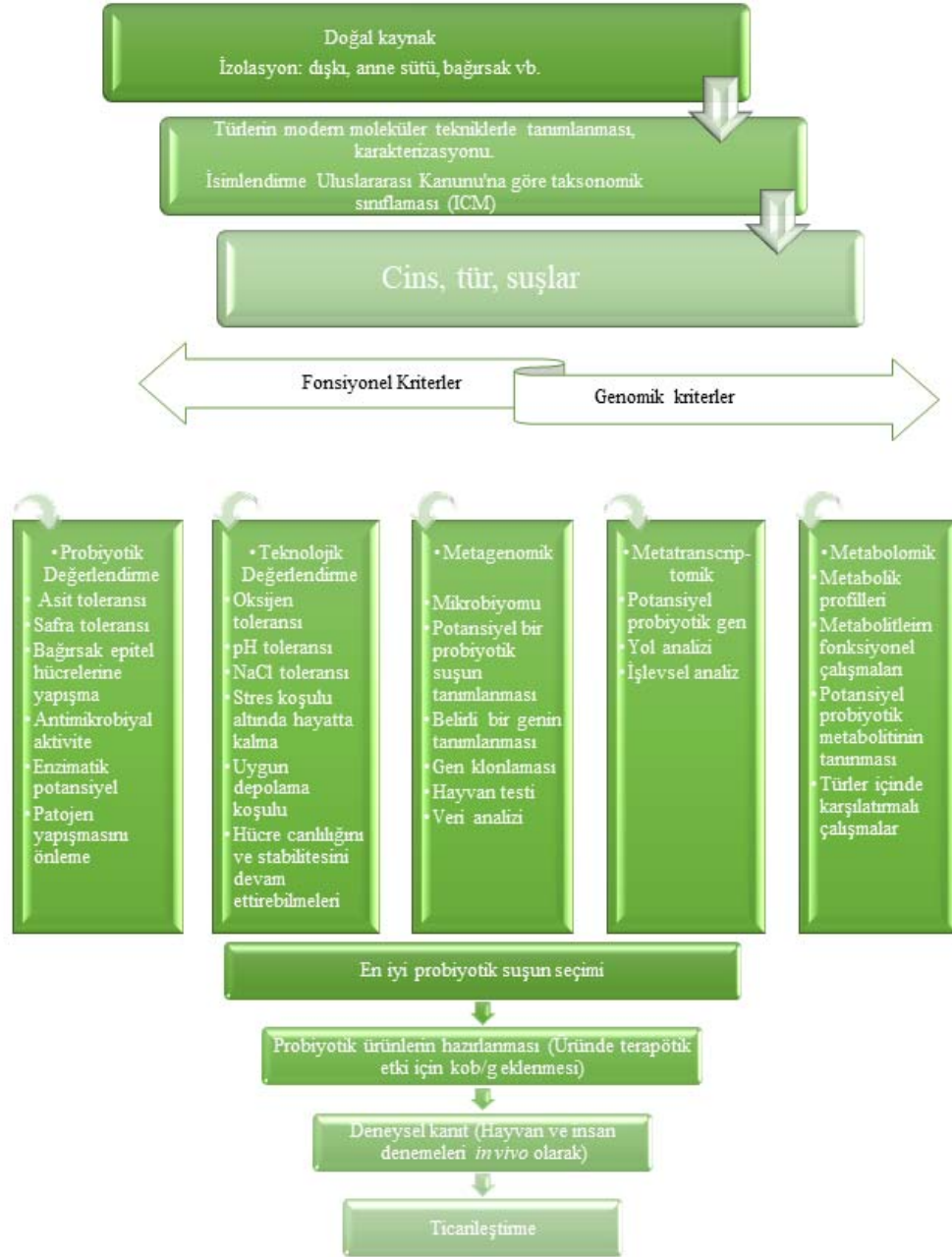
Bazı ekstrinsik (diyet, ilaçlar vb.) ve intrinsik (gastrik asidite, oksijen miktarı, motilite, mukus, gastrointestinal sekresyonlar, antimikrobiyal peptitler, immünite) faktörlere bağlı olarak GİS mikrobiyotası yararlı ya da zararlı mikroorganizmalar lehine değişim göstermektedir. GİS mikrobiyotasının sağlık üzerine olumlu etkili kompozisyonda olduğu durum “öbiyozis” ya da “normobiyoz”, olumsuz etkili olduğu durum da “disbiyozis” olarak tanımlanmaktadır. İnsanlarda disbiyozis görülmesi, enflamatuvar bağırsak hastalığı, kanser, çölyak, alerji, obezite, Parkinson, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Son yıllarda sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi çeşitli hastalıkların patogeneğinde ve tedavisinde güncel bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı mikroorganizmalar dominant olacak şekilde düzenlenmesinde ise probiyotikler, prebiyotikler, simbiyotikler ve fekal transplantasyon gibi tedavilerin etkili olduğu klinik ve deneysel çalışmalar ile bildirilmektedir. Özellikle mikrobiyotanın içerisinde yer alan yararlı mikroorganizmaların çoğalmalarının ve aktivitelerinin probiyotik, prebiyotik ya da simbiyotik gıdaların tüketilmesi ile teşvik edilmesi daha da önem kazanmaktadır. Bunların yanı sıra bazı katı vegan diyetler, çiğ yiyecekler veya “temiz yemek” diyetleri, glutensiz diyetler ve irritabl bağırsak sendromunu tedavi etmek için kullanılan düşük FODMAP (fermente edilebilir oligosakkaritler, disakkaritler, monosakkaritler ve polioller) diyetleri de önerilmektedir (Altuntaş ve Batman 2017, Markowiak ve Ślizewska 2017, Yılmaz ve Altındış 2017, Castro ve de Souza 2019, Karatay 2019).

2.2. Probiyotikler

1900'lü yılların başında Elie Metchnikoff laktik asit bakterilerinin insanların sağlığı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu bildirmiştir. Elie Metchnikoff “bağırsak oto-intoksikasyonunun ve yaşlanma etkilerinin”, bağırsakta fenol, indol ve amonyak gibi toksik bileşikler üreten proteolitik mikroorganizmaların yararlı mikroorganizmalar ile yer değiştirmesi sonucu önlenebileceğini ileri sürmüştür. “*Bulgarian bacillus*” adını verdiği bir bakteri ile fermente süt ürünü geliştirmiştir. İntestinal mikrobiyotanın canlı patojenik olmayan mikroorganizmalar ile yer değiştirerek bağırsak rahatsızlıklarının tedavisi bu tarihten itibaren birçok bilim insanı tarafından çalışılmıştır. Alman bilim insanı Alfred Nissle, Birinci Dünya Savaşı sırasında görülen *Shigellosis* salgınında bir askerin dışkılarından şiddetli enterokolit geliştirmeyen patojenik olmayan bir *Escherichia coli* suşu izole etmiştir. İzole edilen *Escherichia coli* Nissle 1917, LAB olmayan probiyotiklerin birkaç örneğinden biridir. Henry Tissier diyare teşhisi konulan bebekleri tedavi etmek amacı ile anne sütü ile beslenen bebeklerden *Bifidobacterium*'u izole etmiştir. Japonya'da Dr. Minoru Shirota ishal salgınlarına karşı savaşmak için *Lactobacillus casei* Shirota'yı izole etmiştir. Birçok bilim insanı tarafından çalışılan bu yararlı mikroorganizmaları tanımlamak için “antibiyotiklerin tersi”, “bir mikroorganizma tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların çoğalmasını uyaran bir madde”, “mikrobiyal çoğalmaya yardımcı doku ekstraktları”, “konağın bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalı besin desteği” gibi farklı ifadeler kullanılmıştır. Günümüzde bu yararlı mikroorganizmaları adlandırmak için kullanılan “probiyotik” kavramı, Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO, 2009) ve Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Derneği (ISAPP) (2013) tarafından “**yeterli miktarda tüketildiklerinde konakçının sağlığı üzerine olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar**” şeklinde tanımlanmaktadır (Dirican 2017, Kızıltaç 2017, Markowiak ve Slizewska 2017).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak adlandırılabilmesi ve gıda endüstrisi ile medikal alanda kullanılabilmesi için bazı kriterleri sağlaması gerekmektedir. Sağlıklı hayvan ya da insanların sindirim sistemlerinden, meyve ve sebzelerden izole edilen mikroorganizmalar, öncelikle seçici besi ortamı kullanılarak tanımlanmaktadır. Cins, tür ve suş bazında tanımlanan mikroorganizmalar, Şekil 2.2.'de belirtilen “fonksiyonel” ve “genomik” başlıkları altında yer alan testlere tabi tutulmaktadır. Yeni kültürde *in vivo* değerlendirmeler için hedef koloniler, hedef tür patojenitesi ve konak koşullarına direnç gibi testlere tabi tutulmaktadırlar. Hedef türlerin kullanımı ile ilgili herhangi bir kısıtlama yoksa konakçıya gerçekten olumlu etkisinin olup olmadığını kontrol etmek için büyük ve küçük ölçekte *in vivo* ilave deneyler yapılmaktadır. Bilimsel olarak kanıtlanmış sonuçlar veren probiyotik, ticari olarak üretilmekte ve kullanılabilir. Yürütülen tüm bilimsel çalışmalar FAO ve WHO ile ortaklaşa gerçekleştirilmektedir (Ayichew ve ark. 2017, Meybodi ve Mortazavian 2017).

Dünya Gastroenteroloji Örgütü'nün Probiyotik ve Prebiyotikler Rehberi'ne göre probiyotik bir ürünün etiketinde, i) cins ve türün bilimsel olarak tanımlanması, suşun tayin edilmesi, ii) raf ömrü tamamlandığında her suшта bulunan canlı bakteri sayısı, iii) tavsiye edilen depolama koşulları ve güvenlik durumu, iv) ortaya çıkabilecek fizyolojik etkiler, v) belirtilen fizyolojik etkinin görülmesi için gerekli doz ve vi) satış sonrası için iletişim bilgilerinin yer alması gerektiği bildirilmektedir (Gibson ve ark. 2017).



Şekil 2.2. İdeal bir probiyotik mikroorganizmanın sahip olması gereken özellikler ve ticarileştirme süreci

Probiyotik mikroorganizmaların büyük bir kısmı, “genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS; Generally Recognized As Safe)” GRAS statüsünde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri içerisinde yer almaktadır. İnsanlarda probiyotik olarak kullanılan diğer mikroorganizmalar arasında *E. coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Propionibacterium* gibi bakteriler ve mayalardan *Saccharomyces*

boulardii ve küflerden *Aspergillus niger* bulunmaktadır (Şekil 2.3.). Son yıllarda, Avrupa Birliği'nde *Clostridium butyricum*'unda bu mikroorganizmalar arasında yer alabileceği bildirilmektedir (Evren ve ark. 2011, Heydari ve ark. 2011, Fijan 2014, Akan ve Kınık 2015, Omak ve ark. 2016, Kaur ve ark. 2017, Taşdemir ve ark. 2017, Thamacharoensuk ve ark. 2017).

İnsan bağırsak mikrobiyotasının doğal üyeleri olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri içerisinde bulunan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* ve *Bifidobacterium lactis* gıdalarda en fazla kullanılan ve üzerinde en çok çalışma yapılan probiyotik mikroorganizmalardır (Fijan 2014, Omak ve ark. 2016).



Şekil 2.3. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizma türleri

2.2.1. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB) içerisinde en büyük ve en çeşitli cins olan *Lactobacillus*'ların 120'den fazla tür ve 20'den fazla alt türü bulunmaktadır. *Lactobacillus* adı "lacto" süt ve şekil itibari ile çubuk anlamına gelen "bacillus" kelimelerinden türetilmiştir. *Lactobacillus* cinsleri çeşitli meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunmalarının yanı sıra insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleri ile ürogenital sistemlerinde de kolonize olabilmektedirler. Bu mikroorganizmalar özellikle süt ürünleri (yoğurt ve peynir), fermente sebzeler (zeytin ve turşu), fermente et (salam, sos) ve tahıl ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmakta ve birçoğu da probiyotik olarak sınıflandırılmaktadırlar. Fermente ürünlerde kullanımlarının uzun bir geçmişe sahip olması, ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından "*GRAS (genellikle güvenli olarak tanınan)*" olarak tanınmasına ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından "*Nitelikli Güvenilirlik Varsayımı (QPS; qualified presumption of safety)*" listesinde yer almalarına neden olmuştur. LAB, i) morfolojileri, ii) glikoz fermantasyon yetenekleri, iii) farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri, iv) fermantasyon sonucu son üründe oluşturdıkları laktik asit konfigürasyonları ve v) farklı karbonhidratları fermente edebilme özelliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. LAB, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinslerini içermektedir (EFSA 2016, Sun ve ark. 2016, Aryana ve Olson 2017, Hill ve ark. 2018).

Lactobacillus cinsleri gram pozitif, kısa, uzun, ince çubuk ya da kokobasil şeklinde, fakültatif anaerobik ya da mikroaerofilik, spor oluşturmayan, sitokrom içermeyen, aside toleranslı, katalaz negatif, Guanin+Sitozin (G+C) oranı % 50 mol'den az olan bakterilerdir. Gelişmeleri için karbonhidrat, amino asit, peptit, yağ asidi esterleri, tuz, nükleik asit türevleri, vitaminlere ihtiyaç duymaktadırlar. Gelişme sıcaklıkları 2-53 °C, pH'ları ise 3-8 arasında değişmektedir. Optimum gelişme sıcaklığı ve pH'sı ise 30-40 °C ve 5.5-6.2'dir. Karbonhidrat fermantasyonunun son ürünü olarak en fazla laktik asit üretmektedirler (Goldstein ve ark. 2015, Huang ve ark. 2018).

Morfolojik özellikler, gram boyama ve biyokimyasal testler (karbonhidratların fermantasyonu, farklı sıcaklıklarda gelişme, tuz konsantrasyonu vb.) *Lactobacillus* türlerinin sınıflandırılmasında kullanılan geleneksel yöntemlerdir. Fenotipik ve biyokimyasal özellikler açısından karbonhidrat fermantasyonu şekillerine göre *Lactobacillus* cinsleri 3 farklı grupta sınıflandırılmaktadırlar. Obligat zorunlu homofermantatif *Lactobacillus* türleri heksoz şekerleri glikoliz yolu ile fermente ederek son ürün olarak laktik asit oluşturmaktadırlar. Obligat heterofermantatif türler ise fermantasyonda 6-fosfo-glukonat/fosfoketolaz (6PG/PF) yolunu kullanarak son ürün olarak laktik asit ile birlikte CO₂ ve alkol de oluşturmaktadırlar. Üçüncü grup olan fakültatif heterofermantatif *Lactobacillus* türleri ise fermantasyonda heksozları glikolizis yolu ile pentozları ise 6-fosfo-glukonat/fosfoketolaz (6PG/PF) yolu ile fermente etmektedirler. Ayrıca süt ürünlerinden ve probiyotik kaynaklardan izole edilen *Lactobacillus* türlerinin taksonomik sınıflandırılmasında yağ asidi metil esteri ve hücre protein yapı analizleri de kullanılmaktadır. *Lactobacillus* içerisinde yer alan *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei* ve *Lb. rhamnosus* bağırsaktan; *Lb. antri*, *Lb. gastricus*, *Lb. kalixensis*, *Lb. reuteri* ve *Lb. ultunensis* mide mukozasından, *Lb. crispatus*, *Lb. gasseri*, *Lb. jensenii*, *Lb. vaginalis* ve *Lb. iners* vajinadan izole edilmişlerdir. *Lb. acidophilus* insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde ve ağız boşluğunda doğal olarak yer almaktadır (Sun ve ark. 2016, Hill ve ark. 2018).

Lactobacillus casei

“*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* ve *Lactobacillus rhamnosus*” fakültatif heterofermantatif LAB içerisinde filogenetik ve fenotipik olarak yakın ilişkili taksonomik grubu oluşturmaktadırlar. Bu türler, ticari, endüstriyel ve sağlık alanında en çok çalışılan bakteriler olup “*Lactobacillus casei* grubu (LCG)” olarak tanınmaktadırlar. *Lb. casei* strain Shirota ve *Lb. rhamnosus* GG gibi birçok tür probiyotik olarak sınıflandırılmakta ve fermente süt ürünlerinin üretiminde starter kültür, farmakolojide ise medikal amaçlı kullanılmaktadırlar. Bu grubun üyeleri DNA’larında % 45-57 mol G+C oranına sahip, aynı peptidoglikan (L-Lys-DAsp) içermektedirler (Dietrich ve ark. 2014, Hill ve ark. 2018).

Lb. casei, ilk olarak peynirden izole edildiği için bu tür “caseification; peynirleştirme” anlamında “casei” olarak adlandırılmıştır. Bu tür, fermente süt ürünleri, sebzeler, bitkisel fermente ürünler, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemi, anne sütü ile toprak ve göl ortamında yaygın olarak bulunmaktadır. *Lb. casei*, gram (+), hareketsiz, sporsuz, çubuk şeklinde, fakültatif heterofermantatif, fakültatif anaerob ve aside toleranslıdır. Gelişme sıcaklığı 15 °C ile 45 °C aralığında değişmektedir. İnsan sağlığı üzerine antikolesterolemik, laktoz intoleransını hafifletici, intestinal patojenlerin gelişmesini engelleyici, diyareyi tedavi edici ve bağışıklık sistemini koruyucu etkilerinden dolayı probiyotik olarak sınıflandırılmaktadır (Sömer ve ark. 2012, Dietrich ve ark. 2014, Hill ve ark. 2018).

Lactobacillus acidophilus

Sütle beslenen bebeklerin feçeslerinden izole edilen *Lb. acidophilus*, ilk zamanlar intestinal laktobasilleri simgelemek için “*Bacillus acidophilus*”, daha sonra ise Orla-Jensen (1919) tarafından “*Thermobacterium intestinale*” olarak adlandırılmıştır. Asitte yaşayan anlamında olarak *Lb. acidophilus* adı ise Hansen ve Mocquot (1970) tarafından önerilmiş olup halen kullanılmaktadır. En önemli probiyotik türlerden biri olan *Lb. acidophilus*'un fenotipik olarak değerlendirilmesi zor olsa da, heterojenitesi, 1960'larda türlerin 4 farklı biyotipini öneren Lerche ve Reuter tarafından tanımlanmıştır. 1980 yılında rapor edilen DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları, 6 farklı homoloji grubunun varlığını gösteren bu heterojenliği doğrulamıştır. Sonuç olarak, sadece *Lb. acidophilus* ile yüksek derecede DNA ilişkili olduğu gösterilen homoloji grubuna ait olan suşlar bu türde kalırken, daha önceleri *Lb. acidophilus* grubunda yer alan *Lb. amylovorus*, *Lb. gallinarum*, *Lb. crispatus*, *Lb. gasseri* ve *Lb. johnsonii*'nin yer aldığı diğer homoloji grubunun üyeleri ayrı olarak sınıflandırılmıştır. *Lb. acidophilus*, yaklaşık 2-10 µm boyutunda, çubuk morfolojisine sahip gram pozitif bir mikroorganizmadır. A grubunda sınıflandırılan bir homofermantatif anaerobik mikroorganizma olduğundan heksozları fermente etmek için glikoliz ya da EMP yolu kullanmakta olup D ile L-laktik asitleri, asetik asit ve H₂O₂ üretmektedir. Fruktoz, galaktoz, laktoz, sellobiyoz, amigdalin, maltoz, glikoz ve stakiyoza fermente ederek laktik asit oluşturabilmektedir. Oksijen toleransı en az olan *Lactobacillus* türüdür. Optimum gelişme sıcaklığı 37-42 °C arasında olmakla birlikte 45 °C'de de gelişebilmektedir. Bu tür, pH 5.5-6.0 gibi hafif asitli ortamlarda en

yüksek gelişme oranına ulaşmakta ve gelişme pH 4'ün altında azalmaktadır. DNA'daki G+C oranı % 36.7'dir. Riboflavin, B₆ vitamini, nikotinat, nikotinamid, biyotin ve folat gibi çoklu kofaktör ve vitaminleri sentezleyememektedir (Bull ve ark. 2013, Anjum ve ark. 2014). *Lb. acidophilus* fermente süt ürünleri ile intestinal ve vajinal mikrobiyotada doğal olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte, gastrointestinal sistemdeki stabilitesi ve adhezyon yeteneği gibi özellikleri suşa bağlı olarak değişmektedir (Zaheer ve ark. 2010).

***Bifidobacterium* Türleri**

Bifidobacterium türleri ilk olarak Pasteur Enstitüsü'nden Henry Tissier tarafından 1899 yılında anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilmiştir. İlk izole edildiğinde "*Bacillus bifidus comminus*" olarak 1974 yılında ise *Bifidobacterium* olarak tanımlanmıştır. Günümüzde *Bifidobacterium* cinsi, prokaryotların taksonomik grubunda, *Actinobacteria* üyesi, *Actinobacteria* sınıfı, *Actinobacteridae* alt sınıfı, *Bifidobacteriales* takımı, *Bifidobacteriaceae* familyası şeklinde sınıflandırılmaktadır. Bu aileye ait diğer cinsler: *Aeriscardovia*, *Falcivibrio*, *Gardnerella*, *Parascardovia* ve *Scardovia*'dır (Granato ve ark. 2010). En iyi gelişme sıcaklığı 37-43 °C ve pH aralığı 6.5-7.0'dir. pH'nın 4.5-5'den düşük ve 8-8.5'den yüksek olduğu ortamlarda gelişmeleri yavaşlamaktadır. Gram (+), sporsuz, hareketsiz, aside dirençsiz, katalaz negatif, polimorfik dallı çubuklar (eğri Y ya da V) şeklinde bakterilerdir. Anaerobik mikroorganizmalar olarak tanınmakla birlikte türlere ve suşlara göre bazı suşlar CO₂ varlığında oksijeni tolere edebilmektedir. DNA'daki G+C oranı % 47-67 arasındadır. İnsanlardan izole edilen suşların tamamı glikoz, galaktoz, laktoz ve özellikle fruktozu karbon kaynağı, amonyağı da azot kaynağı olarak kullanabilmektedir. Bu türler, organik asitleri, yağ asitlerini ve amino asitleri etkin karbon kaynağı olarak değerlendirememektedirler. Sistein ve sistini ise zorunlu azot kaynağı olarak kullanabilmektedirler. Bu bakteriler çoğalmaları ve aktivitelerini sürdürebilmeleri için "bifidus ya da bifidojenik faktör" olarak bilinen N-asetilglukozamin gibi amino şekerlere, fruktooligosakkarit ve laktuloz gibi karbonhidratlara ihtiyaç duymaktadırlar. *Bifidobacterium* cinsini *Lactobacillus*'lardan ayıran en önemli özellik; "Fruktoz-6-fosfat-fosfoketolaz" enzimi içermeleri ve glikozu fruktoz 6 fosfat yolu (*Bifidum* yolu) ile fermente etmeleridir. Glikozu, asetik asit ve laktik asite (2 glikoz + 5 ADP + 5 Pi → 3 asetat + 2 laktat + 5 ATP) dönüştürdüklerinden heterofermantatif olarak sınıflandırılmaktadırlar. D (-) laktik aside oranla daha yüksek miktarda L (+) laktik asit,

az miktarda formik asit, etanol ve süksinik asit üretmektedirler (Samona ve Robinson 1994, Ceyhan ve Alıç 2012, Yılmaz-Ersan ve ark. 2016).

Bifidobacterium türleri, insan vajina ve ağız boşluğu, kanalizasyon, hayvan ve böceklerin bağırsakları gibi farklı ekolojik sistemlerde bulunmakla birlikte, esas olarak insan ve diğer sıcak kanlı memelilerin bağırsaklarından izole edilmiştir. *Bifidobacterium* türleri anne sütü ile beslenen bebeklerde toplam bağırsak mikrobiyotasının % 95'ini, çocuk ve yetişkinlerde ise % 10'unu oluşturmaktadır. Araştırmalarda en sık kullanılan *Bifidobacterium* türleri, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. lactis* ve *B. longum*'dur. Bu bakteriler arasında mide asidine, safraya ve pankreas enzimlerine karşı dirençli olduklarından *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. lactis* DN-173010 ve *B. longum*, probiyotik özellikleri ile dikkat çeken suşlardır. Probiyotik fermente sütlerin üretiminde kullanılan bazı *Bifidobacterium* suşlarının bazı özellikleri Çizelge 2.1.'de verilmektedir (Kabeerdoss ve ark. 2011, Biavati ve Mattarelli 2012, Yılmaz-Ersan ve ark. 2016).

2.2.2. Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri

Probiyotiklerin sağlık üzerine olumlu etkileri doğrudan ya da dolaylı olabilmekte ve türlere göre farklılık gösterebilmektedir. *Bifidobacterium longum* gibi bazı probiyotikler insan intestinal mikrobiyotasının bir parçası olurken, *Lactobacillus casei* mevcut mikrobiyotayı yeniden şekillendirerek ya da etkileyerek etkisini dolaylı olarak geçici bir şekilde göstermektedir. Probiyotikler, i) epitel boyunca rekabetçi davranış, ii) yerel mikroekosistemin modifikasyonu, iii) epitel bariyer fonksiyonunun geliştirilmesi, iv) bağırsak iltihabının baskılanması ve v) konakçı bağışıklık yanıtının modülasyonu mekanizmalardan herhangi birini kullanarak sağlık üzerine etkili olabilmektedirler (Ohashi ve Ushida 2009, Panesar 2011, Bermudez-Brito ve ark. 2012, Chavarri ve ark. 2012, Gogineni ve ark. 2013, Prentice 2014, Akan ve Kınık 2015, Fernández ve ark. 2015, Meira ve ark. 2015, Santiago-López ve ark. 2015, Begum ve ark. 2017, He ve ark. 2017, Markowiak ve Slizewska 2017, Niamah ve ark. 2017, Yang ve ark. 2017).

Probiyotiklerin sağlığa faydalı olmasında, enfeksiyon kontrolünde ve hastalık tedavisindeki rolü Şekil 2.4.'de verilmektedir.

Çizelge 2.1. Probiyotik fermente sütlerin üretiminde kullanılan bazı *Bifidobacterium* suşlarının karakteristik özellikleri

Karakteristik Özellikleri	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB12	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BL04	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> B94	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> HN019	<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> ATCC 15697
Sıcaklık	37°C - 43°C	37°C - 43°C	37°C - 43°C	37°C - 43°C	36°C - 38°C
Asit toleransı	++++	++++	+++	++++	+
Safra tuzlarına tolerans	++++	++++	++++	++++	+
Oksijen toleransı	+++	++	++	++	+
Sağlığa etkileri	Enfeksiyon sırasında <i>H. pylori</i> ve <i>Clostridium</i> spp.'nin canlı hücrelerinin azaltılması	LgG'nin indüksiyonu; spesifik bağışıklık tepkisini uyarma yeteneği; antibiyotik tedavisinden sonra mikrobiyotanın yenilenmesi	Anti-inflamatuar etkiler ve kolit modellerinde ishalin azaltılması ve <i>H. pylori</i> kolonizasyonunun azalması	<i>E. coli</i> , <i>Clostridium</i> spp. ve <i>Bacteroides</i> spp. ile enfeksiyonun azaltılması	İnsan bağırsak epitel hücrelerine tutunma; enteropatojen hücre etkileşiminin inhibisyonu
++++ Mükemmel, +++ Çok iyi, ++ İyi, +Orta					

Probiyotik Suşlar	Hastalık ve Rahatsızlık Türleri	Probiyotik Kullanımının Etkisi
<i>Oxalobacter formigenes</i> , <i>Lactobacillus</i> ve <i>Bifidobacterium</i> türleri, (<i>L. plantarum</i> PBS067, <i>L. acidophilus</i> LA-14, <i>B. breve</i> PBS077, <i>longum</i> PBS078)	Böbrek taşı oluşumu	i) Böbrek taşı kullanılır ii) Toksik bir bileşik manipüle edilir, metabolize edilir ve bozmak için anahtar bir araç olarak hareket edilir
<i>L. GG</i> , <i>L. rhamnosus</i> <i>Lactis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. salivarius</i> ve <i>Lactococcus lactis</i>	Atopik hastalıklar	i) Atopik egzama azalması gözlenir ve cilt iyileşir ii) Atopik dermatit semptomları orta ve şiddetli durumdan uzaklaştırılır. Başlıca spesifik probiyotik suşların uygulama zamanına, maruz kalma süresine ve doza bağlıdır.
<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. reuteri</i> DSM 17938	Sancı	Emzirilen bebeklerde ve çocuklarda sancının azalmasında çok etkilidir.
<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> ve <i>L. johnsonii</i>	<i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonu	Bakteriyosin salınımını, organik asit üretimini ve epitelial veya mukozal hücrelerde rekabetçi kolonizasyon yoluyla <i>H. pylori</i> 'nin olumsuz etkilerini yok eder.
<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> tek başına veya <i>S. treptococcus</i> ile kombinasyon halinde. <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> (GG değil), ve <i>L. acidophilus</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Akut ve antibiyotikle ilişkili diyare	i) Bağışıklık artar ve viral partikülleri doğrudan inaktive eden maddeler üretilir ii) Patojenlerin istilasını ve tutunmasını önleyerek gelişmelerini engeller.
<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	<i>Candida</i> enfeksiyonu	Mantar patojeni ile mücadele de terapötik bir seçenek olur.
<i>Bifidobacterium</i> türleri, <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>	Kabızlık	i) Mikrobiyotayı değiştirmek, ii) Gastrointestinal rahatsızlıklarını tedavi eder iii) Bağırsaktaki dışkı sıklığını ve tutarlılığını geliştirir/yönetir.
<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. lactis</i> , <i>S. cerevisiae</i>	Huzursuz bağırsak sendromu	i) İrretabl bağırsak sendromu semptomlarını azaltır, ii) Semptomların hafifletilmesinde etkilidir.
<i>L. GG</i> , <i>L. casei</i> <i>Shirota</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i> ve <i>L. paracasei</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Akut viral üst solunum yolu enfeksiyonları	i) Epitelial hücreleri kolonize eder, ii) Üst solunum yolu riskini tamamen önler.
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Bağırsak modülasyonu-Beyinle uyumu	i) Beyin aktivitesinin modülasyonunu sağlar ii) Merkezi sinir sisteminin işlevselliğini korur, iii) Sosyal ve kavramsal davranışların erken gelişimine katkı sağlar
Laktik asit bakterileri	Bağırsak kanseri	i) Bağırsak mikrobiyotasının metabolit aktivitelerinin modifikasyonunu ve kolondaki ve bağlanma bölgesindeki fizyokimyasal koşulları değiştirir, ii) Kanserijenlerin biyodegradasyonu, iii) Anti tümörjenik ve mutajenik bileşikler üretir
<i>L. acidophilus</i> NCFM, <i>L. gasseri</i> SBT2055, <i>L. rhamnosus</i> CGMCC1.3724	Hastalık ve obezite	i) Tip 2 diyabet ve insülin direncini azaltır, ii) Konağın metabolik dengesini koruyarak, gerçek kilo kaybı önemli ölçüde gözlenir.

Şekil 2.4. Probiyotiklerin enfeksiyon kontrolü ve hastalık tedavisindeki etkileri

Son yıllarda mikrobiyota alanında yapılan çalışmalar probiyotiklerin etki şekilleri ile bu etkilere neden olan metabolitleri farklı adlar ile tanımlamaktadırlar. Bu alanda probiyotikler ile ilişkili kullanılan tanımlamalar ve açıklamaları Çizelge 2.2.'de verilmektedir.

Çizelge 2.2. Mikrobiyota alanında probiyotikler ile ilişkili kullanılan tanımlamalar

<i>Tanımlama</i>	<i>Açıklama</i>
<i>Abiyotik, Postbiyotik</i>	Canlı olmayan probiyotik organizmalar veya bunların hücresel bileşenleri, sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesinde olası yararlı etkileri bulunur. Kısa zincirli yağ asitleri, enzimler, organik asitler (laktik asit), peptitler, teikoik asit, peptidoglikan bazı peptitler, endo ve ekzopolisakkaritler, hücre duvarı proteinleri, bakteriyosinler (asidofilin, bifidin, reuterin), vitaminler ve plasmalojenler
<i>Proteobiyotik</i>	Probiyotikler tarafından üretilen 4 ile 8 amino asit içeren biyoaktif peptitlerdir. Organik asitler ve bakteriyosinler gibi probiyotik bakteriler tarafından üretilen diğer moleküllerin aksine hücre çekirdeğini algılamayı engelleyen metabolitler olup, bakterilerde hücre-hücre iletişimine engel olmaktadır.
<i>Farmabiyotik</i>	Canlı probiyotik bakteriler, probiyotik türevli biyolojik olarak aktif metabolitler, prebiyotikler, simbiyotikler veya genetiği değiştirilmiş kommensal bakteriler de dahil olmak üzere, kommensal floranın herhangi bir terapötik kullanımı
<i>İmmünobiyotik</i>	Mukoza bağışıklık sisteminin aktivasyonu yoluyla sağlığı teşvik eden bakteriler
<i>Psikobiyotik</i>	Yeterli miktarda alındığında psikiyatrik hastalığı olan hastaların sağlığı üzerine olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar
<i>Probiyosötikal</i>	Probiyotik kaynaklı faktörler
<i>Canlı biyoterapötik ajanlar</i>	Bakteri gibi canlı organizmalar içeren biyolojik bir ürün; hastalıkların önlenmesi, tedavisi ya da iyileştirilmesi amacı ile kullanılır bir aşı değildir.

2.2.3. Probiyotiklerin Canlılığını Etkileyen Faktörler

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine olumlu etki gösterebilmeleri için önemli olan bazı kriterler bulunmaktadır. Bu kriterler, i) tüketilen probiyotik mikroorganizmanın türü (*Lactobacillus* türleri, *Bifidobacterium* türleri, *Enterococcus* türleri ve mayalar gibi), ii) alınan günlük miktar (10^7 - 10^{10} kob g/mL), iii) tüketildiği zaman (yemeklerden önce, yemek arasında ya da yemeklerden sonra), iv) tüketme süresi (1 gün ya da birkaç ay), v) tüketme şekli (fermente gıdalar, içecek, kapsül, tablet ya da toz şeklinde) olarak belirtilmektedir. Probiyotiklerin sağlık üzerine etkili olabilmesi için gastrointestinal bölgeye yeterli miktarda ulaşması gerekmektedir. Diyare gibi hastalıkların tedavisinde probiyotiklerin kısa süreli kullanımı olumlu sonuç verirken kanser tedavisi için daha uzun süreli probiyotik kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Terapötik etki için gerekli olarak katılan probiyotik mikroorganizma miktarı, gıdanın lezzet ve tekstürünü olumsuz yönde etkilememelidir. Bazı araştırmacılar ürünlerin raf ömrü dikkate alındığında beklenen fonksiyonel etkinin görülebilmesi için gerekli miktarın en az ürünün gram ya da mililitresinde 10^8 - 10^9 kob olması gerektiğini belirtmektedir. FDA ise probiyotik gıdalarda bakteri sayısının tüketim anında en az 10^6 kob/g ya da mL olmasını tavsiye etmektedir (Mortazavian ve ark. 2012, Tripathi ve Giri 2014, Akan ve Kınık 2015, Amund 2016).

Probiyotiklerin gıdalarda kullanılması sırasında dikkat edilmesi gereken genel kurallar ise aşağıdaki şekilde belirtilmiştir.

- uygun gıda ve probiyotik suş kombinasyonu seçilmeli,
- gıda işleme koşulları probiyotik canlılığı üzerine olumsuz etkili olmamalı,
- gıda üretim prosesinde fermantasyon aşaması var ise gıda matriksi probiyotik gelişmeyi destekleyebilmeli,
- gıda matriksi, paketlenme ve üretim koşulları ürünün depolama ve dağıtım sırasında probiyotik bakterilerin canlılığını olumsuz yönde etkilememeli,

Kullanıldıkları üründe ve gastrointestinal koşullarda probiyotiklerin canlılığını etkileyen faktörler çok yönlü olup birkaç kombinasyon aynı anda etkili olabilmektedir. Probiyotik bakterilerin canlılığını hem gıda matriksinde hem de gastrointestinal sistemde etkileyen faktörler Şekil 2.5.'de verilmektedir. Şekilde belirtilen faktörlerden başka, tüketen kişilerin genetik özellikleri, etnik kökeni, yaş ve genel sağlık durumu probiyotiklerin

etkinliğini belirleyici diğer faktörler olarak belirtilmektedir (Huttenhower ve ark. 2012, Amund 2016).



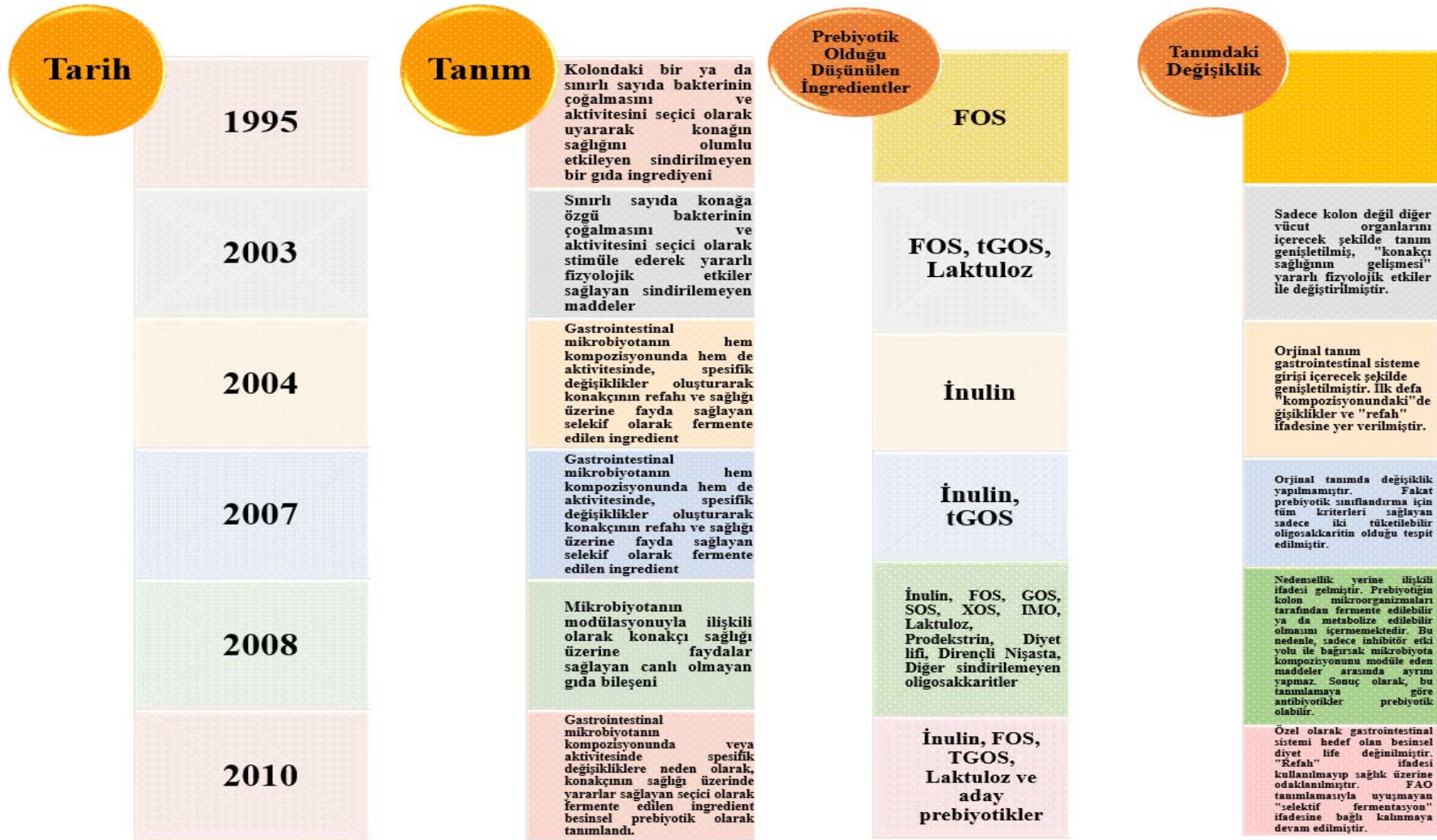
Şekil 2.5. Probiyotiklerin gastrointestinal sistemde ve gıdalarda canlılığını etkileyen faktörler

2.3. Prebiyotikler

İnsanların gastrointestinal sistemi, midede 10^2 - 10^4 kob/g, ince bağırsakta 10^6 - 10^8 kob/g ve kolonda 10^{10} - 10^{12} kob/g sayıda mikroorganizma içerecek şekilde karmaşık bir mikrobiyotaya sahiptir. Bu mikrobiyal ekosistem, intestinal patojenlerin enfeksiyonunda bariyer görevi yapmakta, kolonik epitel hücreleri için metabolik yakıt sağlamak ve bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını yerine getirebilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra bu mikrobiyota, akut ya da kronik rahatsızlıklar ile kolon kanseri gelişiminde de etkili olabilmektedir. Bu nedenle, gastrointestinal sistemde yer alan mikrobiyotanın yararlı mikroorganizmalar dominant olacak şekilde restore edilmesi ve mikrobiyal aktivitenin bu yönde teşvik edilmesi önem arz etmektedir. Bu amaçla önerilen yöntemler, i) antibiyotiklerin kullanımı (yan etkileri olduğundan çok tercih edilmemekte), ii) *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi probiyotiklerin kolonize olabilmemesinin

sağlanması ve iii) prebiyotik bileşenlerin tüketilmesi'dir. 1950'li yıllarda Gyorgy, insan sütünde yer alan N-asetil-glukozamin'in *Bifidobacterium* cinsinden bir suşun gelişmesini desteklediğini bildirerek prebiyotik kavramına atıf yapmıştır. Daha sonraki yıllarda Petuely laktulozun "*bifidus faktörü*" etkisini ortaya koymuştur. 1970'li yıllarda Japon araştırmacılar da sindirilemeyen birkaç oligosakkaritin bifidus faktörü olduğunu ve fruktooligosakkaritler ile galaktooligosakkaritlerin tüketiminin bağırsaklarda *Bifidobacterium* türlerinin gelişmesini stimüle ettiğini belirlemişlerdir. Prebiyotik ifadesi, ilk kez 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından "*kolondaki bir ya da sınırlı sayıdaki bakterinin gelişme ve/ve ya aktivitesini seçici olarak uyararak konakçıya yararlı etkiler sağlayan bu nedenle insan sağlığını iyileştirici özelliklere sahip sindirilemeyen gıda bileşenleri*" olarak tanımlanmıştır. Günümüze kadar ise prebiyotik tanımı farklı şekillerde ifade edilmiştir (Şekil 2.6.). 2017 yılında Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Derneği prebiyotik kavramını güncelleyerek "*konağın bağırsak mikrobiyotasındaki mikroorganizmaların seçici olarak kullandığı, sağlık üzerinde faydalı etkileri bulunan substratlar*" şeklinde belirtmiştir. Bu tanımlamalara göre bir bileşenin, prebiyotik olarak adlandırılabilmesi için *in vitro* ve *in vivo* testlerle kanıtlanmış olan aşağıdaki kriterleri sağlaması gerekmektedir.

- ✚ Midenin düşük pH'sına, enzimatik sindirime ve intestinal emilime dirençli olmalı,
- ✚ İntestinal mikrobiyota tarafından fermente edilebilmeli,
- ✚ Konakçı sağlığı ve fizyolojisi ile ilişkili yararlı bağırsak mikrobiyotasının çoğalma ve/veya aktivitesini seçici olarak stimüle edebilmeli,
- ✚ İnsan denemelerinde test edilmeli,
- ✚ Kanıtlanmış bilimsel etkisi için yeterli miktarda kullanılmış olmalıdır (Hansen 2012, Anadón ve ark. 2016a, Yılmaz-Ersan ve ark. 2016, Batista ve ark. 2017, Gibson ve ark. 2017, Usta ve Yılmaz-Ersan 2017, Yılmaz-Ersan ve ark. 2018).



Şekil 2.6. Prebiyotiklerin tanımlanmasında zaman içerisinde oluşan değişiklikler ve prebiyotik ingredientler

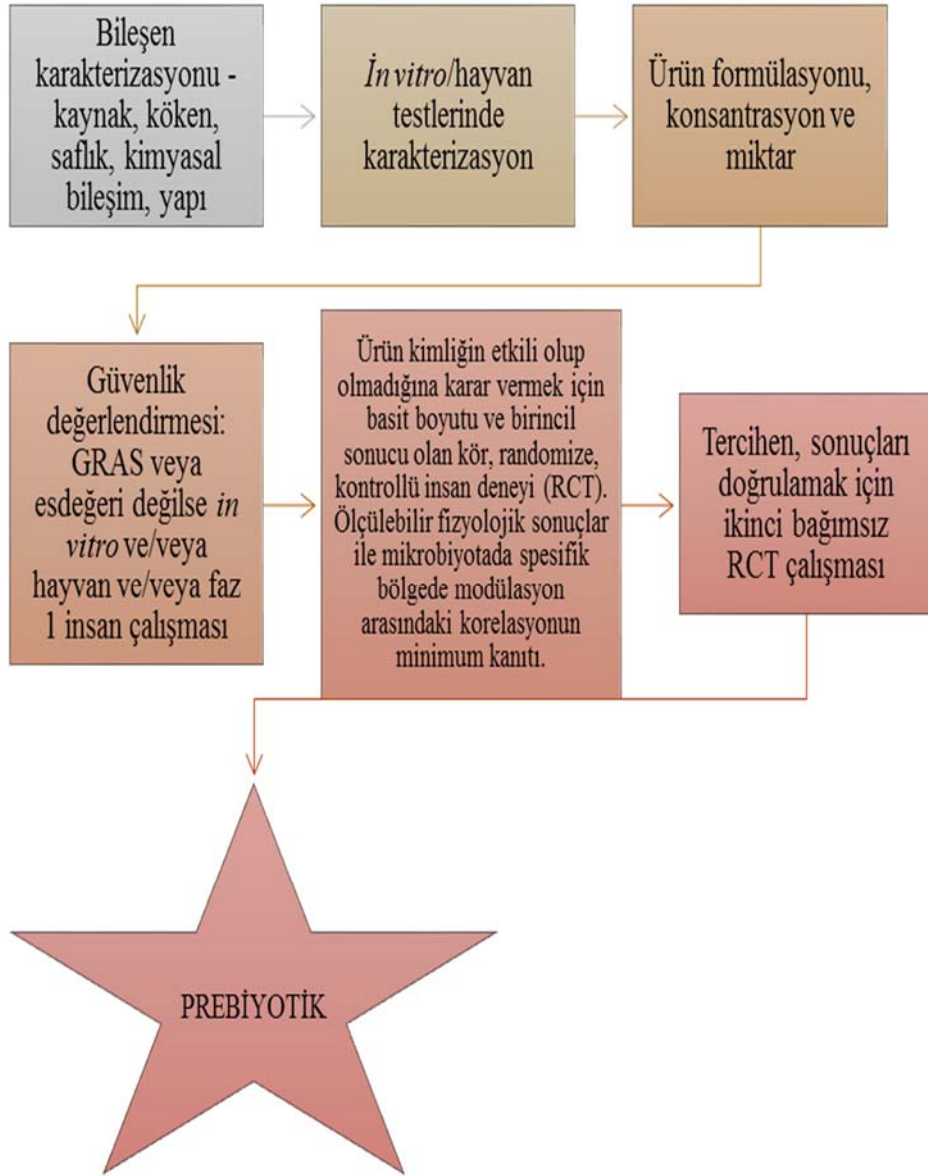
Konakçının intestinal mikrobiyotasının yararlı mikroorganizmalar lehine düzenlenmesinde prebiyotikler, probiyotik ve antibiyotiklere göre daha fazla avantajlara sahiptir. Probiyotiklere göre avantajları; i) gıdalarda uzun raf ömrüne sahip olmaları, ii) gıda işleme proseslerinde sıcaklık ve pH değişimlerine karşı stabil olmaları, iii) gıdanın duyuşsal ve fiziko-kimyasal özellikleri üzerine olumlu etkileri, iv) intestinal kanal boyunca asit, enzim ve safraya karşı dayanıklı olmaları, v) konakçıda bulunan yerleşik organizmaların gelişimini stimüle etmeleri, vi) mikrobiyotanın fermentasyon aktivitesini stimüle ederek, fermentasyon sonucu kısa zincirli yağ asitlerinin oluşmasını sağlamaları ve vii) kolonda daha düşük pH ortamını ve osmotik su tutma kapasitesini sağlamalarıdır. Antibiyotiklere göre avantajları ise i) uzun süreli tüketim ve profilaktik yaklaşımlar için güvenli olmaları, ii) antibiyotikle ilişkili diyare, karaciğer hasarı gibi yan etkilere sahip olmamaları, iii) antimikrobiyal dirençli genleri stimüle etmemeleri ve iv) alerjen olmamalarıdır. Bağırsak şişkinliği, ağrı ve ishal gibi rahatsızlıklar ile antibiyotiklerin patojenlere karşı gösterdiği inhibisyon özelliğine sahip olmamaları prebiyotiklerin dezavantajları olarak görülmektedir. Prebiyotik konseptin temel hedefi, özellikle potansiyel patojenik bakteri grupları varlığında dahi *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* ssp. gibi probiyotik bakterilerin gelişimini seçici olarak uyarmasıdır. Bu seçicilik özelliği, karbonhidratların glikosidik bağlantı tipi, dallanma tipi/derecesi ya da ilave modifikasyonlar ve polimerizasyon derecesi gibi özellikleri ile sağlanabilmektedir. Kısa zincirli karbonhidratlar olan oligosakkaritler, insanlarda sindirim enzimleri tarafından sindirilemeyen ve iki veya daha fazla polimerizasyon derecesine (DP) sahip en önemli prebiyotik bileşenlerdir. Anne sütü (galaktooligosakkaritler), soğan, sarımsak ve pırasa (fruktanlar), soya fasulyesi (stakiyoz) oligosakkaritlerin doğal olarak bulunduğu gıdalardır. Ayrıca prebiyotik bileşenlerin doğal kaynakları arasında; bal, süt, tahıllar ve baklagiller, hindiba gibi sebzeler, ejderha ve kriko meyvesi gibi birçok gıda yer almaktadır (Hansen 2012, Al-Sheraji ve ark. 2013, Rolim 2015, Ozcan ve ark. 2016).

Sağlık üzerindeki etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılan frukto-oligosakkaritler (FOS) ve galakto-oligosakkaritler (GOS) ticari prebiyotikler olarak kabul edilmekte olup, son yıllarda bu prebiyotiklere alternatif daha düşük maliyetli yeni doğal bileşenleri saptamak amacı ile çalışmalar yapılmaktadır (Gavlighi ve ark. 2013, Karlton-Senaye ve Ibrahim 2013, Karlton-Senaye ve ark. 2015). Fruktooligosakkaritler ve

galaktooligosakkaritlerin yanı sıra monosakkaritler, alkoller, çoklu doymamış yağ asitleri, amino asitler, organik asitler, bitkisel ve mikrobiyal ekstraktlar gibi kimyasal yapıları içeren birçok bileşiğin prebiyotik özelliklere sahip olduğu *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla doğrulanmaktadır. Çizelge 2.3.'de potansiyel prebiyotik bileşenlerin saptanmasında uygulanan *in vitro* sistemler verilmektedir. Şekil 2.7.'de ise bir bileşenin “prebiyotik” olarak sınıflandırılabilmesi için uygulanan işlem süreci anlatılmaktadır (O’Sullivan ve ark. 2010, Patel ve Goyal 2012).

Çizelge 2.3. Prebiyotik testi için *in vitro* sistemler

<i>In vitro sistem</i>	<i>Özellikleri</i>	<i>Yararları</i>
<i>Toplu yöntem</i>	Sıcaklık kontrolü, pH ve atmosfer kontrolü	İşlem basit, maliyet düşük, ön veriler mevcuttur.
<i>Üç aşamalı fermentasyon işlemi</i>	Sıcaklık, pH ve atmosfer kontrolü; fermentasyon modellemesi	Toplu yöntemlerden daha kapsamlı sonuç elde edilir ancak sindirim de eksiklik görülür.
<i>SHIME (simulator of the human intestinal microbial ecosystem; insan intestinal mikrobiyal ekosistemini stimüle edici)</i>	Sıcaklık, pH ve atmosfer kontrolü; sindirim ve ince ve kalın bağırsak modellemesi	Elde edilen sonuç <i>in vitro</i> gibidir, ancak besin emilimi yoktur.
<i>TIM I ve TIM II (gastrointestinal sistem model)</i>	Sıcaklık, pH, atmosferik, absorpsiyon ve atık giderimi kontrollü; tam sindirim sistemi modellemesi	Fermentasyon gelişmesini optimize etmek için besin emiliminin yanı sıra atıklar uzaklaştırılır.



Şekil 2.7. Bir bileşenin “prebiyotik” olarak sınıflandırılabilmesi için uygulanan işlem süreci

Şekil 2.7.'deki akış şeması dikkate alındığında izlenecek adımlar;

- i) Önerilen substratın orijini, saflığı, kimyasal bileşimi ile yapısı, taşıyıcı materyali, konsantrasyonu ve insanlar için önerilen tüketim miktarı belirlenmeli,
- ii) Özellikle gastrointestinal sistemde mikrobiyotanın modülasyonu ve ölçülebilir fizyolojik sonuçlar (doygunluk sağlayıcı, endokrin metabolizmasını düzenleyici, besin elementlerinin emilimini arttırıcı, enfeksiyon süresini azaltıcı, bağırsak hareketlerini düzenleyici ve antikarsinojenik etkisi) arasında korelasyon olduğuna dair bilimsel kanıtlar olmalı,
- iii) Kimyasal yapısı ya da bileşimi, sağlık üzerine yararlı etkileri ve modülasyon özellikleri gibi karakteristikleri belirlenmiş olmalı,
- iv) “GRAS” statüsünde ya da “Nitelikli Güvenilir Olarak Kabul Edilen (QSP)” sınıfına dahil olmalı,
- v) En az semptom ve yan etkileri olan güvenli tüketim seviyeleri oluşturulmalı,
- vi) Substrat toksik, mutajenik ve kontaminantlar ile bulaşık olmamalı,
- vii) Konakçı mikrobiyotasını uzun süreli zararlı etkileri olacak şekilde değiştirmemeli,
- viii) Üretim süreci standartlaştırılmalı ve yüksek miktarlarda üretilebilmelidir (Anadón ve ark. 2016a).

Bu aşamalar kapsamında bir substratın prebiyotik etkisinin belirlendiği fermantasyon çalışmalarında nicel ve karşılaştırmalı analizler sonucu uygulanan eşitlikler Şekil 2.8.'de verilmektedir (Palframan ve ark. 2003, Vulevic ve ark. 2004, Cardareli ve ark. 2007, Huebner ve ark. 2007, Kondepudi ve ark. 2012, Hashemi ve ark. 2013, Usta ve ark. 2015).

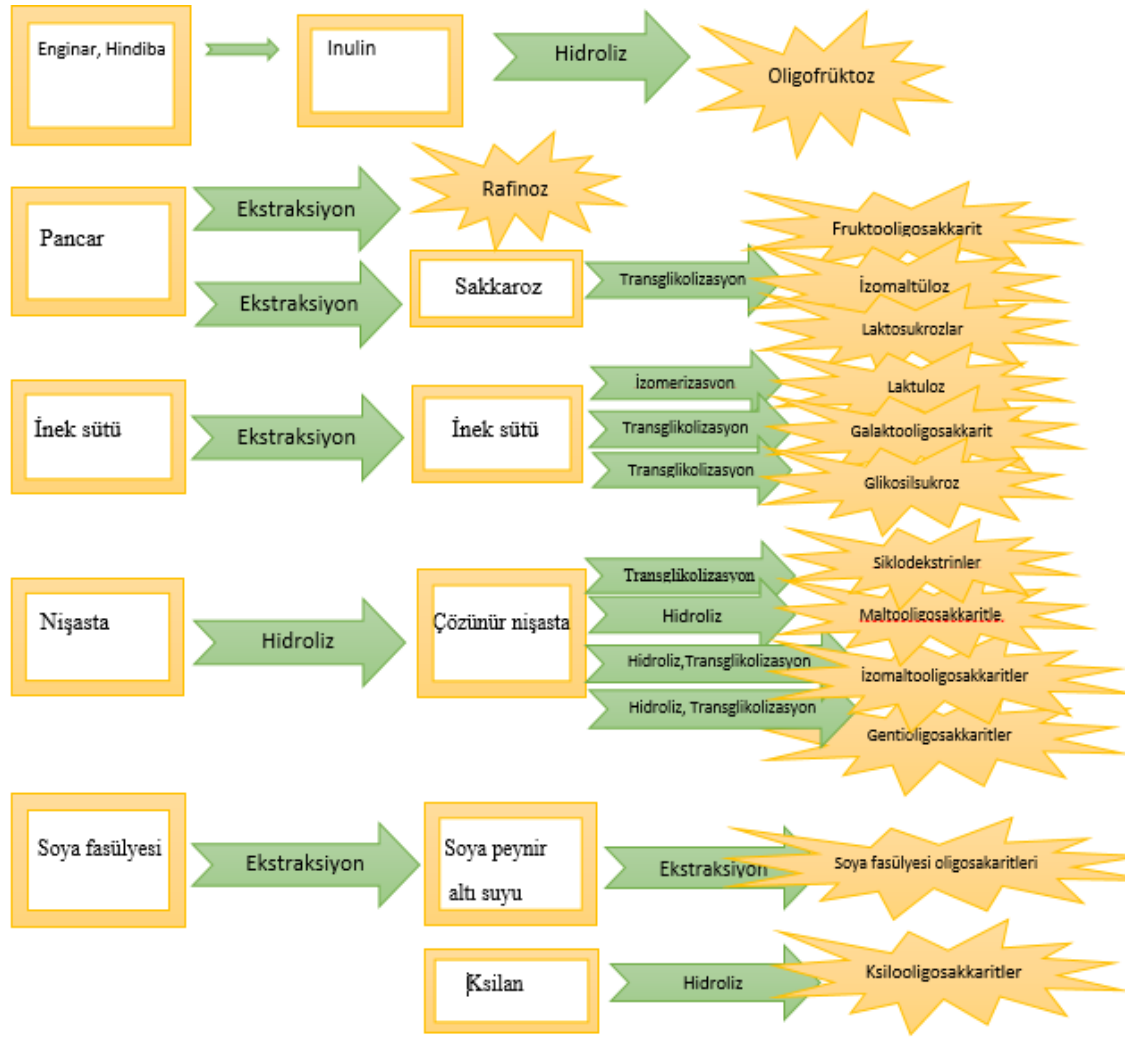
Özümseme Oranı	• Belirli bir zamanda kolonda bakteriler tarafından gerçekleşen sakkaritik fermentasyon sonucu ortamda kalan substratın konsantrasyonu
Bakteriyel Populasyonda Değişim	• $\ln N_t = \ln N_0 + \mu t$ • N_t: Fermentasyon sonrası bakteri sayısı • N_0: Başlangıçtaki bakteri sayısı • μ: Spesifik gelişme oranı (s-1)
Prebiyotik İndeks (PI)	• $PI = (Bif/Total) - (Bac/Total) + (Lac/Total) - (Clos/Total)$ • Bif: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Bifidobacterium türlerinin sayısı • Lac: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Lactobacillus türlerinin sayısı • Bac: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Bacteriodes türlerinin sayısı • Clos: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Clostridium türlerinin sayısı • Total: inokulasyon / örnekleme sırasındaki Toplam bakteri sayısı
Prebiyotik Aktivite Skoru (PAS)	• Belirli fermentasyon süreleri içerisinde prebiyotik bir mikroorganizmanın gelişimini destekleyen substrat ile glukoz gibi prebiyotik olmayan substratlar üzerinde mikroorganizma gelişiminin logaritmik konsantrasyon oranının enterik mikroorganizmalar ile karşılaştırılması
Kısa Zincir Yağ Asitleri Üretimi	• $TKZYA = A + B + P$ • A: Asetik asit B: Bütirik asit P: Propiyonik asit
Prebiyotik etkinin ölçülmesi (MPE)	• $MPE = \frac{1}{2} \sqrt{x^2 y^2} + \sqrt{x^2 z^2} + \sqrt{y^2 z^2}$ • x: Özümseme oranı (A_r) • y: Düzeltilmiş prebiyotik indeks (PI_m) • z: Laktik asitin toplam KZYA'ne oranı

Şekil 2.8. Bir substratın prebiyotik etkisinin belirlenebilmesi amacıyla uygulanan eşitlikler

2.3.1. Prebiyotiklerin Ticari Ölçekte Üretimi

Son yıllarda fonksiyonel bileşenler içerisinde prebiyotik pazarı, yılda % 2 oranında artış ile önemli bir ivme kazanmıştır. Küresel prebiyotik pazarının 2024 yılına kadar 8.5 milyar doları aşması beklendiği Global Market Insights, INC (Delaware, ABD) tarafından

bildirilmektedir. Özellikle Japonya prebiyotiklerin üretimi ve tüketiminde ilk sırada yer almaktadır. Prebiyotiklerin pazar payının ivme kazanması ile çeşitli gıda (soya, süt, mercimek, bal, şeker, hindiba, kuşkonmaz, soğan, pırasa, muz, domates, buğday, enginar, çavdar, arpa), yan ürünleri (şeker kamışı suyu) ve atıklarından (badem kabukları, nohut kabuğu, mısır koçanı, buğday kepeği) bu bileşenlerin üretilmesine de ilgi artmaktadır. Prebiyotikler doğal kaynaklardan su, sulu metanol veya etanol çözeltileri kullanılarak hidroliz işlemiyle ekstrakte edilebilmektedirler. Ayrıca kimyasal (asit hidrolizi, termomekanik bozunma ve oksidatif bozunma) ya da enzimatik (stereoselektif glikosiltransferaz ve glikosilsintetaz enzimleri) olarak da üretilmektedirler (Şekil 2.9.). Kimyasal ve enzimatik yöntemler ile elde edilen oligosakkarit karışımları genellikle farklı moleküler ağırlıklı oligosakkaritler ile daha az miktarda monosakkarit ve disakkaritten oluşmaktadır. Elde edilen prebiyotik bileşenin saflığını arttırmak için oligosakkarit oluşumundan sonra reaksiyona girmemiş substratların ve monosakkaritlerin ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Oligosakkaritlerin saflaştırılmasında karbon celite kolonları, iyon değişim kolonları ve silika jel kolonları gibi kolon kromatografisi kullanılması yanı sıra ince tabaka kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, flaş kromatografisi, boyut dışlama kromatografisi, membran filtrasyon mikrobiyal arıtma teknikleri de kullanılmaktadır (Saad ve ark. 2013, Fei ve ark. 2019). Oligosakkaritleri tanımlamak ya da miktarını belirlemek için de ince tabaka kromatografisi (TLC), gaz sıvı kromatografisi (GC), nükleer manyetik rezonans (NMR), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ve sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2014, Soininen ve ark. 2014).



Şekil 2.9. Prebiyotiklerin doğal kaynaklardan elde edilmesinde kullanılan yöntemler

2.3.2. Prebiyotiklerin Gıdalarda Kullanımı

Prebiyotikler gıda takviyesi ya da özel gıda olarak da satışa sunulabilmektedir. Prebiyotik takviyeler etiketlenmiş olarak satışa sunulabildiği gibi doğrudan yiyeceğin üzerine serpilebilmekte, içeceklere karıştırılmakta ya da kapsül, tablet, çiğnenebilir ürün olarak raflarda bulunabilmektedir. En yaygın kullanılan prebiyotikler, suda çözünabilmekte, tamamen berrak olduğu için gıdalara kolayca katılabilmekte ve olumsuz özelliklere neden olmamaktadırlar. Sporcu içecekleri, zayıflama tozları, hazır içilebilir protein destekleri ve özel beslenme amaçlı üretilen barlar tüketicilerin prebiyotiklere ulaşması konusunda alternatif gıdalar olarak geliştirilmektedir (Anadón ve ark. 2016a).

Prebiyotikler gıda takviyesi amaçlı,

- i) Fırıncılık ürünleri, et ürünleri ve diyetetik ürünlerde “**yağ ikame maddesi**”,
- ii) Süt ürünleri, fırıncılık ürünleri, diyetetik ürünler, tatlı, içecek, çikolata, şekerleme, çorba ve sos sektöründe “**tatlandırıcı/şeker ikamesi**”,
- iii) Yoğurt, fırıncılık ürünleri, et ürünleri, bebek mamaları ve tatlılarda “**tekstürel özellikleri geliştirici**”,
- iv) İçeceklerde “**köpük stabilizasyonu sağlayıcı**”,
- v) Yoğurt, fırıncılık ürünleri, et ürünleri, diyetetik ürünler, çikolata, kek, bisküvi ve tatlılarda “**diyet lifi**”,
- vi) Çikolata sektöründe “**ısı uygulamalarında stabiliteyi arttırıcı**”,
- vii) Yoğurt, tatlı ve bebek mamalarında “**duyusal özellikleri geliştirici**”,
- viii) Kek ve bisküvilerde “**nem tutucu**” olarak kullanılmaktadırlar.

Kullanılan prebiyotik bileşenlerin yüksek sıcaklık, düşük pH ve maillard reaksiyonları gibi gıda işleme proseslerine dayanıklı olmaları gıda katkı maddesi olarak kullanımlarını da arttırmaktadır (Yılmaz-Ersan ve ark. 2012, Ozcan ve ark. 2016, Yang ve Xu 2018).

2.3.3. Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri

Prebiyotikler, yetişkin ve pediatrik hastalarda diyabet, kanser, böbrek yetmezliği, metabolik stres, travma ve immünosüpresyon gibi çeşitli hastalıkları tedavi edici olarak kullanılmaktadırlar. Prebiyotiklerin bağırsakta fermente edilmesi sonucu asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), laktik asit, karbondioksit, metan ve hidrojen gibi gazlar oluşmaktadır. KZYA'leri, i) kolon epitel hücreleri için gerekli enerjiyi sağlarlar, ii) bağırsak pH'sını düşürürler, iii) putreaktif ve patojen bakterilerin gelişmesini engellerler, iv) bağırsak epitel hücrelerini mekanik, kimyasal ve mikrobiyal zararlardan korurlar, v) sodyum, kalsiyum ve magnezyum gibi minerallerin emilimini arttırırlar, vi) immun sistemin düzenlenmesine yardımcı olurlar, vii) gastrointestinal sistemde bazı tokluk hormonlarının salınımını düzenleyerek iştah üzerinde de etkili olurlar, viii) enfeksiyonel bağırsak hastalıkları riskini azaltırlar ve ix) antitümörenejik etki göstermektedirler. Ayrıca prebiyotiklerin, putreaktif, toksik, mutajenik ve genotoksik bileşenlerin konsatrasyonunu düşürdüğü, kanser riskini azalttığı, glisemik kontrolü geliştirdiği, B grubu vitaminlerinin sentezlenmesini sağladığı,

dışkılama miktarını arttırdığı ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği de bildirilmektedir. Hastalara prebiyotik ile zenginleştirilmiş ürünler verildiğinde, fermantasyon yolu ile kolonositlere kısa zincirli yağ asitleri temin edilmekte, bağırsak fonksiyonları ile bütünlüğü normalleştirilmekte ve hastane ortamında kolonizasyon direncinin oluşturulması sağlanmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı, antibiyotik ile ilişkili diyare, kolit gibi çeşitli irritabl bağırsak rahatsızlıkları ve tıbbi beslenme tedavisi için formüle edilmiş bir diyet alırken genel bağırsak sağlığının korunması gibi durumlarda prebiyotikler alternatif tedavi edici olarak kullanılmaktadırlar (Arora ve ark. 2011, Aune ve ark. 2011, Fung ve ark. 2012, Coşkun 2014, Bindels ve ark. 2015, Sanders 2015, Yasmin ve ark. 2015, Anadón ve ark. 2016a, Markowiak ve Ślizewska 2017).

Prebiyotiklerin insan sağlığı üzerine olumlu etki gösterebilmesi için günlük önerilen miktarı tüketicinin yaşına, fizyolojisine ve kullanılan prebiyotiğin türüne göre değişiklik göstermektedir. Prebiyotiklerin günlük önerilen dozları ülkelerin yasal düzenlemelerine göre değişiklik gösterebilmektedir. Türkiye’de prebiyotik gıdalar hakkında yasal düzenlemeler “Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği Ek 2”de belirtilmiş olup, prebiyotik bileşen tüketiminin devam formülleri ile bebek ve küçük çocuk ek gıdaları için 8 g/gün’ü aşmaması, devam formülleri için en az 0,6 g/100 kcal ve en çok 1,2 g/100 kcal olması, bebek ve küçük çocuk ek gıdaları için en az 0,6 g/100 kcal olması gerektiği belirtilmektedir (Anonim 2017a).

2.4. Simbiyotikler

“Simbiyotik” ya da “eubiyotik” terimi bağırsakta yararlı bir mikrobiyal popülasyonu teşvik etmek için aralarında sinerjik etki bulunan probiyotik ve prebiyotiklerin kombinasyonunu içeren gıdaları tanımlamak için kullanılmaktadır. Sağlık üzerine yapılan bilimsel çalışmalarda, simbiyotik ürünler fonksiyonel gıdalar içerisinde umut verici bir yaklaşımı oluşturmaktadır. Probiyotik ve prebiyotiğin birlikte kullanımı ile oluşturulan simbiyotik ürünlerde probiyotik suşun miktarı ve prebiyotik bileşen ile uyumu en önemli kriterdir. Spesifik prebiyotik bileşenlerin varlığında probiyotik türlerin çoğalma hızının ve fermantasyon aktivitesinin belirlendiği çalışmalar ile en iyi simbiyotik ürün geliştirilebilmektedir. Prebiyotik bileşen sadece probiyotik suşların gelişimini stimüle etmekte aynı zamanda kolondaki faydalı diğer bakterilerin de gelişimini teşvik

etmektedir. Son yıllarda süt ürünleri, meyve suları ve çikolata simbiyotik ürünlerin geliştirilmesinde önemli gıdalar arasında yer almaktadırlar (Anadón ve ark. 2016b, Miremadi ve ark. 2016, Markowiak ve Śliżewska 2017).

2.5. Karpuz ve Ürünlerinin Beslenmedeki Önemi

Karpuz (*Citrullus lanatus*) bir sebze mahsulü, *Cucurbitaceae* familyasına ait otsu sürünen bir bitkidir. Karpuz, çiçekli bitkilerin *Cucurbitaceae* (kabakgiller) familyası, *Citrullus* cinsine ait'dir (Şekil 2.10.). Karpuz daha çok ılık bölgelerde, en iyi şekilde asidik yapılı, drenajlı ve verimli toprakta yetiştirilmektedir (Tabiri ve ark. 2016):

Alem	Bitki
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Cucurbitales
Familya	<i>Cucurbitaceae</i>
Bilimsel ad	<i>Citrullus lanatus</i>
Sinonim	<i>Citrullus vulgaris</i>
Cins	<i>Citrullus</i>
Tür	<i>lanatus</i>

Şekil 2.10. Karpuzun taksonomik sınıflandırılması (Biswas ve ark. 2017)

En yaygın Türk karpuz çeşitleri “Diyarbakır”, “Ankara”, “Komando”, “Kore”, “Sürme”, “Tat karpuzu”, “Kara karpuz”, “Ak karpuz”, “Çerezlik karpuz” “Beyaz Kış”, “Siyah Kış”, Amerikan”, “Halep Karası”, “Çakal”, “Medine”, “Yerli” ve “Gelin” dir .

100 g yenilebilir karpuz:

- 30 kkal/127 KJ enerji,
- 91.45 g su,
- 7.55 g karbonhidrat,
- 6.20 g şeker (1.21 g sakkaroz, 1.58 g glikoz, 3.36 g früktoz, 0.06 g maltoz),
- 0.61 g protein (sitrulin, arjinin ve glutatyon amino asitleri),
- 0.15 g yağ (0.16 g toplam doymuş, 0.37 g toplam tekli doymamış, 0.5 g toplam poli-doymamış yağ asitleri),

- 0.25 g kül,
- 7 mg kalsiyum, 0.24 mg demir (Fe), 10.0 mg magnezyum (Mg), 11 mg fosfor (P), 112 mg potasyum (K), 1 mg sodyum (Na), 0.1 mg çinko (Zn), 0.042 mg bakır (Cu), 0.038 mg manganez (Mn), 0.4 mg selenyum (Se), 1.5 mg flüorit (F),
- 8.1 mg askorbik asit, 0.033 mg tiamin (Vit B₁) , 0.021 mg riboflavin (Vit B₂) , 0.178 mg niasin (Vit B₃), 0.221 mg pantotenik asit (Vit B₅), 0.045 mg Vit B₆, 3 mg folik asit (Vit B₉), 0.3 mg betain, 78 ug kriptoksantin, 8 ug lutein + zeaksantin, 4532 ug likopen, 569 IU Vitamin A, 0.05 mg alfa-tokoferol (Vit E), 0.1 ug filokinon (Vit K),
- 0.4 g diyet lifi,
- 15.73 µg karoten içermektedir (El-Adawy ve ark. 2001, Collins ve ark. 2007).

Karpuzun içerdiği likopen, sitrulin, arginin ve glutatyon bileşenleri nedeni ile kardiyovasküler hastalık üzerine olumlu etki gösterdiği saptanmıştır. Özellikle bileşimindeki likopenin pankreas, prostat ve mide kanseri riskini azalttığı ve deriyi UV zararından koruduğu üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Diğer bir bileşeni protein olmayan bir amino asit olan sitrulin, vücutta arginin amino asidine dönüşmekte ve üre döngüsünde görev almaktadır. B₃ vitamini (Niacin) miktarının yüksek olmasının, kolesterolü düşürdüğünü, beyin işlevini artırdığını, sindirim sistemi, cilt ve sinir sisteminde işlev görmesine yardımcı olduğunu göstermektedir. Ayrıca karpuzun antimikrobiyal, antiülseratif, antioksidan, ağrı kesici, antiinflamatuvar, antihepatotoksik aktivite gösterdiği, mide koruyucu ve laksatif etkili olduğu bildirilmektedir (Garster 1997, Anonim 2003, Güner ve Wehner, 2004, Razavi ve Milani 2006, Collins ve ark. 2007, Guo ve ark. 2013).

Karpuz çekirdeği % 25.2-37.0 protein ve % 37.8-45.4 yağ içermektedir. Protein içeriğinde lizin ve kükürt içeren amino asitler, arjinin, izolösin, lösin ve fenilalanin gibi esansiyel amino asitler yer almaktadır. Ayrıca glutamik asit ve aspartik asit de içermektedir. Karpuz çekirdeği yağ asidi içeriğinin % 79'u doymamış yağ asitleri olduğu bildirilmiştir. Yağ asitlerinin % 68' i linoleik asit (18:2), % 11' i oleik asit (18:1), % 16-18 stearik asit, % 13-15'i palmitik asittir. Bilimsel çalışmalar, karpuz çekirdeği yağının fizikokimyasal özelliklerinin önerilen sınırlar dahilinde olduğundan iyi bir pişirme ve

kızartma yağı kaynağı olabileceğini belirtmektedir. Fonksiyonel özellikleri ile ilgili olarak da karpuz çekirdeği yağının kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve antidiyabetik aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Çekirdek 100 gramında 5.28 mg askorbik asit, 0.13 mg tiamin, 0.13 mg riboflavin ve 3.22 mg niasin içermektedir. Magnezyum, kalsiyum, potasyum, demir, fosfor ve çinko gibi mikro ve makro besin maddeleri ile alkaloidler, flavanoidler, tanninler, kardiyoglikozit, terpenoid, steroid ve karotenoidler çekirdeğin bileşiminde yer almaktadır. Son yıllarda özellikle yüksek protein ve yağ içeriği nedeniyle bebek formülasyonlarının geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Karpuz çekirdeğinin bileşiminde doğal bir antioksidan olarak tanımlanan “cucurbocitrin”in böbrek fonksiyonlarını düzenlediği, kan basıncını düşürmeye yardımcı olduğu ve idrar söktürücü etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Özellikle çekirdek, β -karoten ve zengin vitamin içeriği nedeni ile antioksidan özellik göstermektedir. Karpuz çekirdeği alkaloid, flavanoid, tannin, amino asit, karbonhidrat, kardiyoglikosid, terpenoid ve yağ gibi fitokimyasal içeriği nedeni ile antiviral, antiallerjik, antiplatelet, antiinflammatuvar, antitümör, antidiyare ve antidiyabetik etki de göstermektedir (Johnson ve ark. 2012, Rahman ve ark. 2013, Achu ve ark. 2013, Omigie ve Agoreyo 2014, Oseni ve Okoye 2013, Biswas ve ark. 2017, Nwachoko ve Oghale 2017).

Tabiri ve ark. (2016), üç farklı karpuz çeşidine (Charleston grisi, Kızıl tatlı ve Siyah elmas) ait çekirdeklerin fiziko-kimyasal ve antioksidan kapasite özelliklerini incelemişlerdir. Karpuz çekirdeklerinin % 7.40-8.50 nem; % 26.50-27.83 yağ; %16.33-17.75 protein; % 9.55-15.32 karbonhidrat; % 2.00-3.00 kül; % 39.09-43.28 lif ve 354.05-369.11 kcal/100g enerji değerine sahip olduğunu saptamışlardır. Çekirdeklerin yapılan mineral madde analizi sonucunda Ca, P, Mg, Na, K ve Zn minerallerini içerdiğini belirlemişlerdir. En yüksek toplam fenol içeriği (5416 mg GAE/100 g) Kızıl tatlı çeşidinde saptanırken bu çeşidi Siyah elmas (3949 mg GAE/100 g) ve Charleston grisi (1494 mg GAE/100 g) izlemiştir. Benzer şekilde antioksidan kapasite değerleri açısından da en yüksek değer Kızıl tatlı çeşidinde ve en düşük ise Charleston grisi çeşidinde belirlenmiştir. Araştırmacılar, karpuz çekirdeklerinin diyetle önemli bir besin kaynağı olduğunu, mineral madde, diyet lifi, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasiteleri nedeni ile fonksiyonel bileşen olarak katkı sağlayabileceklerini belirtmişlerdir.

2.6. Kavun ve Ürünlerinin Beslenmedeki Önemi

Kavun, karpuz ve hıyar gibi kabakgillerden sürüngen gövdeli bitkinin iri meyvesi olarak tanınmaktadır. Kavun botanik olarak *Cucurbitaceae* familyası içerisinde yer alan *Cucumis* cinsinin bir üyesidir (Şekil 2.11.). Günümüzde yetiştiriciliği yapılan kavunun sistematik adı *Cucumis melo*'dur. Kavun en iyi sıcak ve ılık iklimlerde yetiştirilmektedir (Mısır 2012).

Alem	Bitki
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Violales
Familya	<i>Cucurbitaceae</i>
Cins	<i>Cucumis</i>
Tür	<i>Cucumis melo</i>

Şekil 2.11. Kavunun taksonomik sınıflandırılması

Türkiye’de illere göre kavun üretimi değerlendirildiğinde sıralamanın Adana, Konya, Ankara ve Manisa olduğu bildirilmektedir. Türkiye’de yetiştiriciliği en fazla yapılan kavun çeşitleri ise Hasanbey, Kırkağaç (Altınbaş), Yuva, Van (Kantalop, Cep kavunu), Topatan, Honeydew, Casaba türleridir (Arıgül 2012).

Kavun besinsel değerleri bakımından oldukça zengin bir meyvedir. Kimyasal kompozisyonunda suda çözünür kuru maddeyi oluşturan şekerler, vitaminler, mineraller, enzimler, asitler ve çeşitli aromatik bileşenler bulunmaktadır. Ayrıca suda çözünmeyen pektik bileşenler ve alkolde çözünmeyen selüloz gibi kuru maddeleri de içermektedir. Kavun birçok polifenol, organik asit, lignanlar ve insan sağlığı açısından yararlı diğer polar yapıli bileşikleri içermektedir (Rodríguez-Pérez ve ark. 2013, Kale 2017).

100 g yenilebilir kavun;

- 18-53 KJ enerji,
- 87-92 g su,

- 6-15 g karbonhidrat,
- 7-12 g şeker,
- 0.6-1.2 g protein ,
- 0.1-0.2 g yağ,
- 5-18 mg kalsiyum (Ca), 0.2-0.6 mg demir (Fe), 8-17 mg magnezyum (Mg), 7-57 mg fosfor (P), 130-330 mg potasyum (K),
- 0.06 mg tiamin (Vit B₁) , 0.02 mg riboflavin (Vit B₂) , 6-60 mg C vitamini içermektedir.

Yapılan araştırmalar kavunun bazı kardiovasküler rahatsızlıkların tedavisinde yardımcı olduğunu, antioksidan, antiinflamatuvar etki gösterdiğini ve kanser riskini azalttığını bildirmektedir (Lester 1997, Vouldoukis ve ark. 2004, Milind ve Kulwant 2011). Kavun meyve eti genellikle tüketilen kısım olmakla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda kavun kabuğunun ve çekirdeklerinin de yüksek oranda biyoaktif bileşiklere sahip olduğu belirtilmektedir (Egbebi 2014, Okorie 2018).

Kavun çekirdeğinde; kavunun cinsine bağlı değişkenlik göstermekle birlikte yaklaşık % 30-40 yağ (başta linolenik asit olmak üzere, oleik, palmitik, stearik yağ asitleri, fitosterol ve tokoferoller), % 15-25 protein (globülin, arginin, aspartik asit, glutamik asit ve lisin amino asitleri), % 15 lif ve potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, çinko, fosfor mineralleri ile B ve C vitaminlerini içerdiği ve enerji değerinin 598.09 kcal/100 g olduğu belirtilmektedir (Arıgül 2012). *Citrullus lanatus* (egusi kavun) çekirdeği ununun besinsel kompozisyonunun incelendiği bir çalışmada, % 4.6 ± 0.3 nem, % 3.7 ± 0.1 kül, % 23.4 ± 0.2 ham protein, 10.6 ± 0.2 toplam karbonhidrat ve % 12.0 ± 0.1 ham lif içerdiği saptanmıştır. Amino asit analizinin sonucu, 100 g proteinde 9.0 g arginin, 4.8 g isolösin, 4.2 g lösin, 3.2 g fenilalanin, 16.9 g glutamik asit ve 16.3 g aspartik asit içerdiği belirlenmiştir. Mineral madde içeriğinin ise 13.0 ± 0.2 mg/100 g Na, 96.1 ± 0.4 mg/100 g K, 28.2 ± 0.2 mg/100 g Ca, 31.4 ± 0.2 mg/100 g Mg, 1.7 ± 0.1 mg/100 g Mn, 0.4 ± 0.1 mg/100 g Cu, 1.2 ± 0.1 mg/100 g Zn, 1.3 ± 0.2 mg/100 g Fe ve 125.3 ± 3.1 mg/100 g P olduğu saptanmıştır. *Citrullus lanatus* (egusi kavun) çekirdeği ununun, protein açısından zengin olduğu bilinen soya fasulyesi, börülce ve balkabağı ile kıyas kabul edilebilecek bir gıda olduğu bildirilmektedir (Ojieh ve ark. 2008).

Kavun çekirdeğinin besinsel ve anti-besinsel bileşiminin incelendiği bir çalışmada, % 7.10 nem, % 92.90 kuru madde, % 30.63 ham protein, % 4.52 karbonhidrat, % 2.70 kül, % 6.00 ham lif ve 582.05 kcal/100 g enerji içerdiği belirlenmiştir. Mineral madde değerlerinin ise 144.70 mg/100 g Fe, 22.73 mg/100 g Mn, 21.05 mg/100 g Zn, 20.46 mg/100 g Mg ve 0.10 mg/100 g Ca olarak belirlenmiştir. Analiz edilen anti-beslenme faktörleri olarak 26.40 mg/100 g oksalat, 39.40 mg/100g tanen ve 1.56 mg/100g hidrosiyamik asitler tespit edilmiştir. Araştırmacılar, *Citrullus lanatus* çekirdeğinin yağ, protein, lif ve mineral madde gibi önemli besin maddelerinin iyi bir kaynağı olduğunu ve bu nedenle önemli besin takviyesi olarak kullanım potansiyeline sahip olabileceğini belirtmişlerdir (Jacob ve ark. 2015).

Hindistan cevizi ve kavun çekirdeği yağının sabunlaştırma değeri, asit değeri, peroksit değeri, iyot değeri (mg, KOH/g) ve özgül ağırlık gibi fizikokimyasal parametrelerinin incelendiği bir çalışmada, sabunlaşma değeri hariç diğer parametrelerin kavun çekirdeği yağında hindistancevizi yağından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yağlar için elde edilen düşük asit değerleri, her iki yağın da yenilebilir olduğunu göstermektedir. Elde edilen yüksek sabunlaşma değerleri, yağların kozmetik ve sabun yapımı gibi endüstriyel uygulamalarda büyük potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen düşük iyot değerleri, yağların çok az doymamış bağ içerdiğini gösterirken, düşük peroksit değerleri, yağların oksidatif ransidite ve bozulmaya karşı düşük duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir (Wilberforce ve Eze 2017).

2.7. Meyve ve Sebze Çekirdeklerinin Prebiyotik Potansiyeline Yönelik Yapılan Çalışmalar

Jahromi ve ark. (2016), hurma yağının yan ürünü olarak ayrılan hurma çekirdeği küspesinin oligosakkarit ekstraksiyonunu ve karakterizasyonunu incelemişlerdir. Hurma çekirdeği küspesinde, nötral deterjan solüsyonu kullanarak % 16.81 oranında 2 ile 8 polimerizasyon derecesine sahip oligosakkaritleri ekstrakte etmişlerdir. Oligosakkaritlerin bilinmeyen iki bileşenin yanı sıra heptasakkarit ve oktasakkaritinkine benzer 7 fraksiyonun moleküler ağırlıklarını mannobioz, mannotrioz, mannotetraoz, mannopentaoz ve mannoheksoz standartlarında kütle spektrofotometre kullanarak hesaplamışlardır. Oligosakkaritlerin enzimatik hidrolizini 11 enzim kullanarak

gerçekleştirmişler ve β -mannosidaz ile β -mannanazın en yüksek etkilere sahip olduğunu saptamışlardır. Oligosakkaritlerin fraksiyonlarının, dört *Lactobacillus* türünün gelişmesi için potansiyel substratlar olduğunu, tavuk eti diyetlerine ilave ederek yararlı mikroorganizmaların popülasyonunu artırdığını saptamışlardır. Aynı zamanda ince bağırsak ile kalın bağırsağın arasında kalan apandisit olarak adlandırılan bölgedeki patojen mikroorganizmaların popülasyonlarını azalttığını belirlemişlerdir. Bu nedenle oligosakkaritlerin yem ve gıda endüstrisinde prebiyotik takviye olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Al-Thubiani ve Khan (2017), öğütülerek elde edilmiş hurma çekirdeği tozunun ve suda hazırlanmış ekstraktlarının laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*'nin gelişmesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Fermantasyonun 0., 24., 48., 72. ve 96. saatlerinde toplam bakteri sayısını saptamışlardır. Elde edilen veriler öğütülerek elde edilmiş hurma çekirdeği tozlarının ve sulu ekstrakt formlarının bakteriyel fermantasyonlar için karbon kaynağı olarak kullanılabileceklerini göstermiştir. Çekirdeğin içeriğindeki diyet lifi miktarı, pH değerlerini düşürmenin yanı sıra, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* popülasyonunu artırarak yeni bir prebiyotik kaynağı olarak kullanılabilmek potansiyeli olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle Orta Doğu ülkelerinde atık olarak ortaya çıkan hurma çekirdeklerinin, fonksiyonel gıda bileşenleri üretmek için hammadde olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Palaniappan ve ark. (2017), darı çekirdeği kabuğundan elde edilen ksilooligosakkaritlerin prebiyotik potansiyelini incelemişlerdir. Darı çekirdeği kabuğunun ticari olarak temin edilebilen *Thermomyces lanuginosus* ksilanazıyla muamele edildiğinde ksilooligosakkaritin verimi % 72 bulunmuştur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ELSD) kullanılarak analiz edildiğinde elde edilen ksilooligosakkaritin polimerizasyon derecesinin (DP) 2 olduğu ve Elektro Sprey İyonizasyon Kütle Spektrumu (ESI-MS) ana şekerin ksilobiyoz olduğunu göstermiştir. Ksilooligosakkaritin β -glikozidik bağlantılarının varlığını, Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) çalışmaları ile tanımlamışlardır. Ksilooligosakkarit, % 75 antioksidan aktivite ve prebiyotik etkinlik göstermiştir. Probiyotik suşların varlığında prebiyotik aktivitenin suşa özgün olduğu ve suşlar

arasındaki prebiyotik aktivite skorundaki (PAS) farklılıkların belirgin olduğu saptanmıştır. Darı çekirdek kabuklarından elde edilen ksilooligosakkarit içeren ortamda gelişen *Lactobacillus plantarum*'un hücresiz süpernatantı, ticari ksilooligosakkarit ile karşılaştırıldığında dört patojenik mikroorganizmaya karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Darı çekirdek kabuğunun, ksilanın ekstraksiyonu ve prebiyotik ksilooligosakkarit üretimi için ekonomik ve alternatif bir kaynak olabileceğini saptamışlardır.

Pallavi ve ark. (2017), şeker elma çekirdeklerinin prebiyotik etkisini incelemişlerdir. Çekirdeğin 28 g/100 g oranında ham lif, 9.6 g/100g düşük moleküler ağırlıklı karbonhidrat, 23.26 g/100 g çözünür diyet lifi ve 54.43 g/100 g çözünmez diyet lifi içerdiğini belirlemişlerdir. Seçilen bileşenlerin prebiyotik etkinliğini değerlendirmek için prebiyotik aktivite skoru hesaplanmıştır. PAS sonuçları çözünür lif kısmı için 1.91, çözünmeyen lif kısmı için 0.63 ve LMWC için 0.19 olarak saptanmıştır.

Bello ve ark. (2018), hurma çekirdeği posasının çözünür polisakkaritlerinin probiyotiklerin gelişmesine etkisini incelemişlerdir. Posa, hurma çekirdeği yağından arındırıldıktan sonra su, sitrik asit ya da NaOH ekstraksiyonu kullanılarak ham polisakkaritler elde edilmiştir. Ekstrakte edilen polisakkaritlerin fizikokimyasal özellikleri, toplam karbonhidrat, protein içeriği, çözünürlük oranı, monosakkaritlerin bileşimi, yapısal ve termal özellikleri belirlenmiştir. Ekstrakte edilen çözünür polisakkaritlerin yapay mide öz suyu kullanılarak sindirilebilirliği ile *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ve *Lb. rhamnosus* ATCC 53103 üzerindeki prebiyotik potansiyelleri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Hurma çekirdeğinin kül (% 5.2), nem (% 7.4), karbonhidrat (% 65.8), protein (% 16.5) ve yağ (% 5.1) içerdiği belirlenmiştir. FTIR spektroskopisi polisakkarit ekstraktlarının β ve α -glikosidik bağlara sahip olduğunu göstermiştir. Yapay mide öz suyuna maruz kaldığında çözünebilir polisakkaritlerin hidrolize karşı yüksek direnç gösterdiği belirlenmiştir. Polisakkaritlerin probiyotikler üzerindeki prebiyotik potansiyelleri incelendiğinde, organik asitler üreterek ortamın pH'ını düşürdükleri ve *Lb. plantarum* ATCC 8014 ile *Lb. rhamnosus* ATCC 53103'ün proliferasyonunda bir artışa neden oldukları belirlenmiştir. Araştırmacılar, endüstriyel bir

atık olan hurma çekirdeğinden ekstrakte edilen polisakkaritlerin prebiyotik olarak kullanılabilceğini saptamışlardır.

Majeed ve ark (2018), yabanmersini çekirdeği lifinin prebiyotik potansiyelini ve *Bacillus coagulans* MTCC 5856 suşu ile fermentasyonunu incelemişlerdir. Çekirdek lifinin gastrik asit ve domuz pankreasının enzimatik (PPE) hidrolize direnci *in vitro* model kullanılarak araştırılmıştır. Çekirdek lifinin mide asidine karşı dirençli olduğu ve PPE'nin hidrolize uğramadığı bulunmuştur. Yabanmersini çekirdeği lifi ilaveli besi ortamında *B. coagulans* MTCC 5856 tarafından önemli miktarda kısa zincirli yağ asitlerinin üretildiği belirlenmiştir. Çekirdek lifi, *B. coagulans* MTCC 5856'nın gelişmesini stimüle ederken *E. coli* ATCC 25922'nin gelişmesini inhibe etmiştir. Yabanmersini çekirdeği lifinin probiyotik *B. coagulans* MTCC 5856'un yer aldığı simbiyotik formülasyonlarda prebiyotik olarak kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

Kwon ve ark. (2018), şarap üretimi yan ürünü olan ve flavonoid ile diyet lifi açısından zengin olan üzüm çekirdeği ununun, kefirde izole edilen 10 probiyotik LAB suşunun ve patojenik *Clostridium perfringens*'in gelişmesi üzerindeki prebiyotik aktivitesini *in vitro* olarak incelemişlerdir. Üzüm çekirdeği unu ilaveli besi ortamında 10 LAB suşu arasında en fazla gelişme *Leuconostoc mesenteroides* DH 1608 suşunda saptanmıştır. Araştırmacılar üzüm çekirdeği ununun, probiyotik bakterilerin gelişmesini stimüle ederken, patojenik bakterilerin gelişmesini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Seçilen LAB suşu ile üzüm çekirdeği ununun yer aldığı simbiyotik formülasyonların bağırsak sağlığı üzerine olumlu etki gösterebileceğini önermişlerdir.

Abbasilasi ve ark. (2018), Hindistan cevizi çekirdeği posasının çözünür ham polisakkaritlerinin prebiyotik etkisini *in vitro* incelemişlerdir. Polisakkaritler için en yüksek ekstraksiyon verimini (% 2.90) NaOH kullanarak elde etmişlerdir. En yüksek protein yüzdesi (% 0.63 ± 0.09) ve toplam karbonhidrat içeriği (% 55.36 ± 0.33) NaOH ile ekstrakte edilmiş ham polisakkaritlerin bileşiminde (SCPN) ve sitrik asitle ekstrakte edilmiş ham polisakkaritlerin bileşiminde (SCPCA) gözlenmiştir. Su ile ekstrakte edilmiş ham polisakkarit bileşimi (SCPW) en yüksek glikoz yüzdesini içerirken, sitrik asitle ekstrakte edilmiş ham polisakkaritlerin bileşiminde monosakkarit, galaktoz ve mannoz

olduğu gözlenmiştir. Ham polisakkaritlerin bileşiminin yapısal analizi, polisakkaritlerin alfa (α) - veya beta (β) -glikozidik bağların varlığının bir göstergesi olan 1000-1077 cm^{-1} aralığında pikler görülmüştür. Hidroliz derecesi, 4 saatlik inkübasyon sonunda pH'ın 5'ten 8'e yükseltilmesiyle artmıştır. Su ile ekstrakte edilmiş ham polisakkarit bileşiminin ve sitrik asitle ekstrakte edilmiş ham polisakkaritlerin bileşiminin, fruktooligosakkaritlere (FOS) kıyasla α -amilaza daha dirençli olduğu bulunmuştur (% 95). FOS (% 98) da olduğu gibi, su ile ekstrakte edilmiş ham polisakkarit bileşimi (% 99) ve sitrik asitle ekstrakte edilmiş ham polisakkaritlerin bileşimi (% 98) yapay mide öz suyuna karşı direnç göstermiş ve hidroliz dereceleri pH ile negatif korelasyon göstermiştir. Ekstrakte edilen polisakkaritlerin test edilen probiyotiklerin (*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ve *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103) çoğalmasını ve asitlik aktivitesini belirgin bir şekilde uyardığı saptanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada, kullanılan probiyotik özellik gösteren mikroorganizmalar DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures-Almanya) firmasının kültür koleksiyonundan temin edilmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan probiyotik mikroorganizmalar

Mikroorganizmanın Adı	Ticari İsimlendirilmesi
<i>Lactobacillus casei</i>	DSM20011
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	DSM20079
<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>	DSM10140
<i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>	DSM20088
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	DSM 20239

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmaların Aktivasyonu

Kullanılan mikroorganizmaların aktivasyonu amacı ile DSMZ firmasının önerdiği Çizelge 3.2.'de içeriği belirtilen bazal gelişme besiyeri kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Mikroorganizmaların aktivasyonu için kullanılan bazal gelişme besiyeri

Bileşenler	1 Litrede miktarı
Kazein Pepton	10,00 g
Et ekstraktı	5,00 g
Maya ekstraktı	5,00 g
Bacto soytone	5,00 g
Glikoz	10,00 g
K ₂ HPO ₄	2,00 g
Tween 80	1,00 g
NaCl	5,00 g
L-cysteine HCl	0,50 mL
Tuz solüsyonu	40,00 mL
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20 g
MgSO ₄ .H ₂ O	0,05 g
Resazurin	4,00 mL

Mikroorganizmalar bazal gelişme besiyerinde 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda inkübasyona bırakılan kültürler ikinci kez aktivasyonun sağlanması amacı ile *Bifidobacterium* türleri için Trypton Pepton Maya Ekstraktı (TPY) sıvı besiyerine, *Lactobacillus* türleri için ise De Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) sıvı besiyerine (Çizelge 3.3.) ilave edilerek 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılarak ikinci kez aktive edilmeleri sağlanmıştır.

Çizelge 3.3. Tripton Pepton Maya Ekstraktı (TPY) ve De Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) sıvı besiyerlerinin bileşimi

Trypton Pepton Maya Ekstraktı (TPY)		De Man, Rogosa ve Sharpe (MRS)	
Bileşenler	1 Litrede miktarı	Bileşenler	1 Litrede miktarı
Trypton	10,00 g	Maya Ekstraktı	5,00 g
Pepton	5,00 g	Kazein Pepton	10,00 g
Maya ekstraktı	2,50 g	Et Ekstraktı	10,00 g
Glikoz	5,00 g	Tween 80	1,00 mL
Tween 80	1,00 mL	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	2,00 g
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	2,00 g	Glikoz	2,00 g
MgCl ₂	0,50 g	Na-asetat	5,00 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,20 g	Amonyum Sitrat	2,00 g
CaCl ₂	0,15 g	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,003 g	MnSO ₄ .4H ₂ O	0,05 g
L-cysteine HCl	0,50 g		

3.2.2. Karpuz Çekirdeği ve Kavun Çekirdeği İçeren Besi Ortamının Hazırlanması

Çalışmada, 2019 yılında hasat edilen kavun ve karpuzlardan elde edilen kurutulmuş “kavun çekirdeği” ve “karpuz çekirdeği” Sadullah Efendi (Batman, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeğinin bileşimi Çizelge 3.4.’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan karpuz çekirdeği ve kavun çekirdeğinin bileşimi

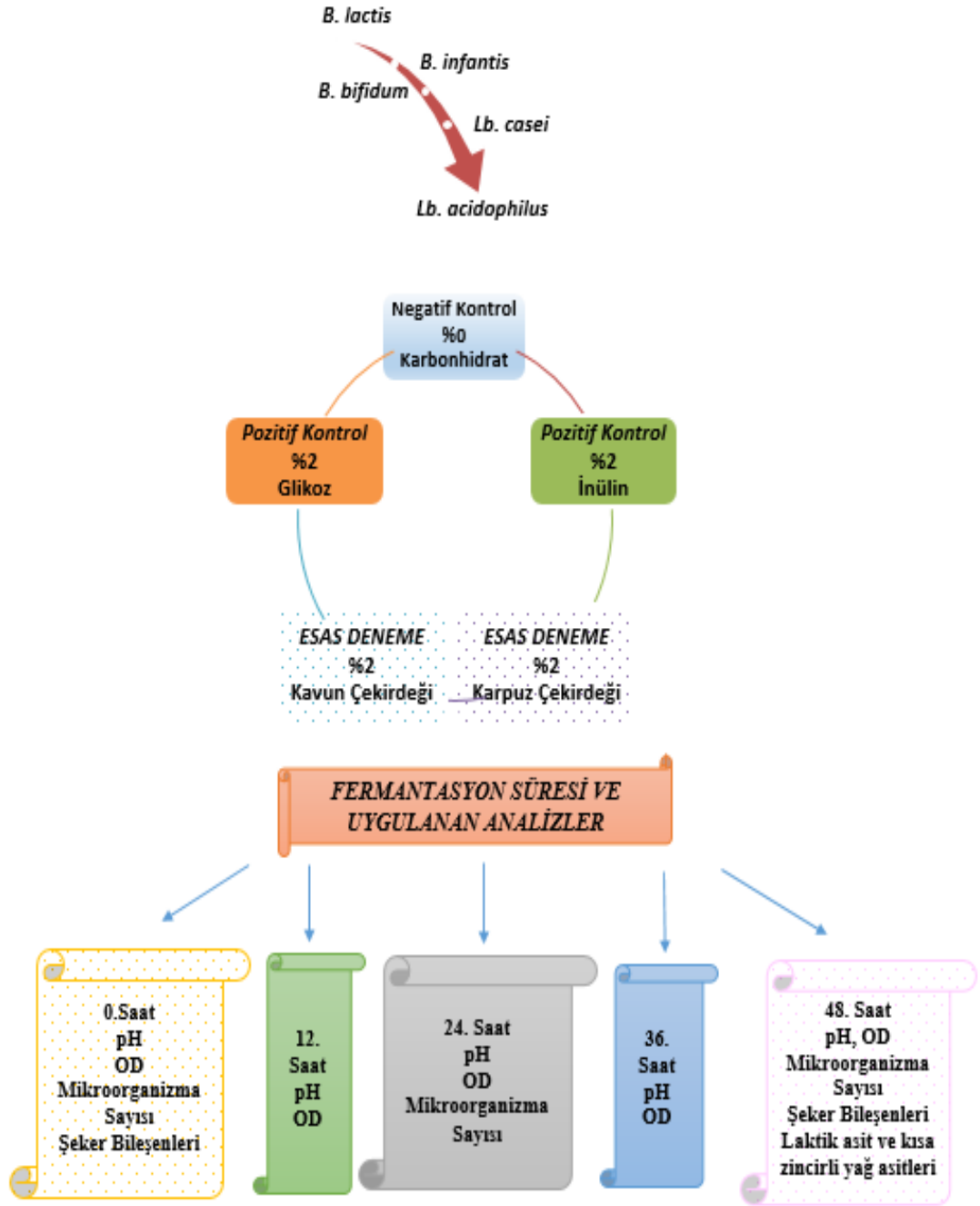
Bileşenler	Kavun Çekirdeği	Karpuz Çekirdeği
Kurumadde (g/100 g)	94.83	95.04
Kül (g/100 g)	8.07	7.26
Protein (g/100 g)	23.04	20.25
Yağ (g/100 g)	35.00	28.43
Karbonhidrat (g/100 g)	28.72	39.10
Glikoz (g/100 g)	0.61	1.35
Galaktoz (g/100 g)	0.37	1.01
Fruktoz (g/100 g)	2.56	3.04
Sükroz (g/100 g)	0.75	0.07
Ksiloz (g/100 g)	0.04	0.01
Antioksidan kapasite (DPPH μ mol trolox/g)	1.94	1.46
Toplam fenolik madde (mg gallik asit/g)	36.72	0.37

Kullanılan probiyotik bakterilerin kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeğini fermente edebilme yeteneklerini belirlemek için *Bifidobacterium* türleri için karbonhidrat içermeyen TPY sıvı besiyeri ve *Lactobacillus* türleri için ise karbonhidrat içermeyen MRS sıvı besiyeri bazal gelişme ortamı olarak kullanılmıştır.

Çalışmada Sousa ve ark. (2015)'in önerdiği yöntem kullanılmıştır. % 10'luk kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği solüsyonu hazırlandıktan sonra, 4000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği supernatantları, 0,45 µm delik çaplı membran filtre (Millipore-Stericup-GP) kullanılarak filtre-sterilizasyon işlemi ile sterilize edilmiştir. *Bifidobacterium* türleri için karbonhidrat içermeyen steril TPY sıvı besiyeri ve *Lactobacillus* türleri için ise karbonhidrat içermeyen steril MRS sıvı besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Steril kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği supernatantları son konsantrasyonu % 2 olacak şekilde, *Bifidobacterium* türleri için steril TPY sıvı besiyerine ve *Lactobacillus* türleri için ise steril MRS sıvı besiyerine ilave edilmiştir. % 2 oranında glikoz (Merck, Almanya) ve prebiyotik etkisi kanıtlanmış ticari inulin (Çizelge 3.5. Orafit® HSI, Belçika) içeren besiyerleri pozitif kontrol olarak, karbonhidrat içermeyen temel gelişme ortamı ise negatif kontrol olarak seçilmiştir. Aktive edilen kültürlerden besi ortamına % 2 oranında ilave edilerek 37 °C'de 48 saat anaerobik şartlar altında fermentasyona bırakılmıştır. Anaerobik inkübasyon şartlarını sağlamak için, anaerobik plastik kavanozlar (Merck, Germany) ve oksijeni uzaklaştırmak amacıyla da Aneorocult (Oxoid, England) adı verilen sistem kullanılmıştır. Çalışmada uygulanan deneme deseni Şekil 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan inulinin özellikleri

PARAMETRE	ÖZELLİK
Görünüş	Beyaz-hafif sarı toz
Tat	Hafif tatlı tatsız
Suda Çözünürlük (25°C)	>200 g/L
Yoğunluk	650±50 g/L
İnulin	≥86 g/100 g
Glikoz+Fruktoz+Sakkaroz	≤14 g/100 g
Toplam Kurumadde	97±2 g/100 g
Karbonhidrat	>99 g/100 g
Protein	İhmal edilebilir
Yağ	İhmal edilebilir
Vitamin ve Mineral Maddeler	İhmal edilebilir
Kalori değeri	215 kcal/871 KJ
İletkenlik (w=15 g/100 g)	<250 µs/cm
pH (w=10 g/100 g)	5,0-7,0
Kurşun (ppm)	<0,02
Arsenik (ppm)	<0,03
Kadmiyum (ppm)	<0,01
Civa (ppm)	<0,01
Toplam Aerobik, Mezofilik Mikroorganizma Sayısı (kob/g)	<1000
Maya(kob/ g)	<20
Küf (kob/ g)	<20
Anaerobik Termofilik H₂S Üreten Sporlar (kob/ g)	<25
Enterobacteriaceae (EMS/ g)	Negatif
Bacillus cereus (kob/g)	100 kob/g
Koagülaz Pozitif Stafilokoklar (EMS/ 0.1 g)	Negatif
Toplam Koliform	Negatif
E. coli (EMS/g)	Negatif
Clostridia spp. (EMS/g)	Negatif
Salmonella spp. (EMS/ 250 g)	Negatif
Listeria spp. (EMS/ 25 g)	Negatif



Şekil 3.1. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri tarafından karpuz çekirdeği ve kavun çekirdeği fermantasyonuna ait deneme deseni

3.2.3. Fermantasyon Süresince Uygulanan Analizler

pH analizi

Fermantasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde mikoorganizmalar tarafından oluşturulan asitlik gelişimini belirlemek amacı ile pH (pH 315i/SET ; WTW, Germany) ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Optik yoğunluk (OD)

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* türleri tarafından kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeğinin fermente edilebilirliği ve mikroorganizma gelişimini saptamak amacı ile hücre yoğunluğu, fermantasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde Shimatzu UV 1800 model spektrofotometre kullanılarak 600 nm’de ölçülmüştür.

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* türlerinin sayısının belirlenmesi

Fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum* sayısının belirlenmesi amacı ile MRS-Agar (Merck, Germany) kullanılmıştır. *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum*’e ait negatif kontrol, glikoz, inulin, kavun ve karpuz çekirdeği katkılı besi ortamlarından 1/100 000, 1/1 000 000 ve 1/10 000 000 oranında hazırlanan dilüsyonlar steril petri kaplarına 1’er mL olarak aktarılmıştır. MRS-Agar’dan petri kaplarına 15-20 mL katılarak besiyeri ve örnek rotasyon hareketi ile karıştırılmıştır. Besiyeri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilmiş, 37 °C’de 48 saat anaerobik inkübasyona tabi tutulmuştur. Anaerobik inkübasyonu sağlamak için anaerojenik plastik kavanozlar (Merck, Germany) ve oksijeni uzaklaştırmak amacıyla da AnaeroGen (Oxoid, England) adı verilen sistem kullanılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan koloniler (30-300) sayılarak mililitrede *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum* sayısı adet olarak saptanmıştır. İstatistiksel değerlendirmede sonuçlar logaritmik ($\log_{10}$) olarak verilmiştir.

3.3. Gelişme Oranı

Fermantasyon süresince her iki bakteri türlerine ait gelişme oranı Azmi ve ark. (2012) tarafından önerilen aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Gelişme oranı} = \frac{\text{Son fermentasyon süresindeki mikroorganizma sayısı} - \text{Bir önceki fermentasyon süresindeki mikroorganizma sayısı}}{\text{Bir önceki fermentasyon süresindeki mikroorganizma sayısı}}$$

3.4. Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS)

Prebiyotik aktivite sayısının belirlenmesi amacı ile bir gecelik kültürler % 1 (v/v) oranında, son konsantrasyonda % 2 oranlarında glikoz, inulin, kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği içeren *B. lactis*, *B. infantis*, *B. bifidum* için TPY ve *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* için ise MRS broth'a ilave edilmiştir. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kültür Koleksiyonundan temin edilen *Enterococcus* türü, % 2 oranlarında glikoz, inulin, kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği içeren Tryptic Soy Broth (TSB: Tryptone 17,00 g/L; Bacto soytone 3,00 g/L; Glikoz 2,50 g/L; K₂HPO₄ 2,50 g/L; NaCl 5,00 g/L) sıvı besiyerine ilave edilmiştir. Kültürler 37 °C'de anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Fermantasyonun 0. ve 24. saatlerinde mikroorganizma sayısının belirlenmesi amacı ile mikrobiyolojik ekim yapılmıştır. Mikrobiyolojik ekimde *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum* için MRS-Agar (Merck, Germany), *Enterococcus* türü için ise Tryptic Soy Agar kullanılmıştır. 37 °C'de 72 saat anaerobik inkübasyonun sonunda saptanan mikroorganizma sayısı dikkate alınarak aşağıdaki eşitliğe göre prebiyotik aktivite sayısı hesaplanmıştır (Olano-Martin ve ark. 2002, Huebner ve ark. 2007).

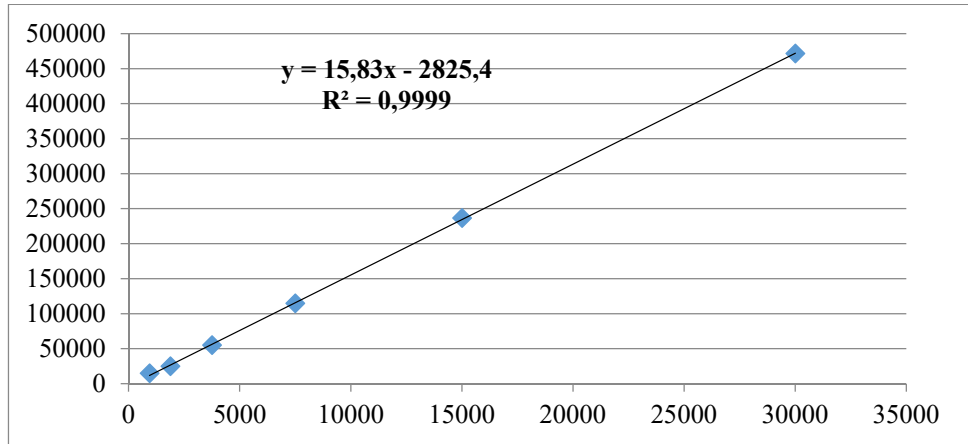
$$\left\{ \frac{[(\text{Probiyotik mikroorganizma sayısı}_{24.\text{saat Prebiyotik}}) - (\text{Probiyotik mikroorganizma sayısı}_{0.\text{saat Prebiyotik}})]}{(\text{Probiyotik mikroorganizma sayısı}_{24.\text{saat Glikoz}}) - (\text{Probiyotik mikroorganizma sayısı}_{0.\text{saat Glikoz}})} \right\} - \left\{ \frac{[(\text{Enterik mikroorganizma sayısı}_{24.\text{saat Prebiyotik}}) - (\text{Enterik mikroorganizma sayısı}_{0.\text{saat Prebiyotik}})]}{(\text{Enterik mikroorganizma sayısı}_{24.\text{saat Glikoz}}) - (\text{Enterik mikroorganizma sayısı}_{0.\text{saat Glikoz}})} \right\}$$

3.5. Şeker Bileşenleri Analizi

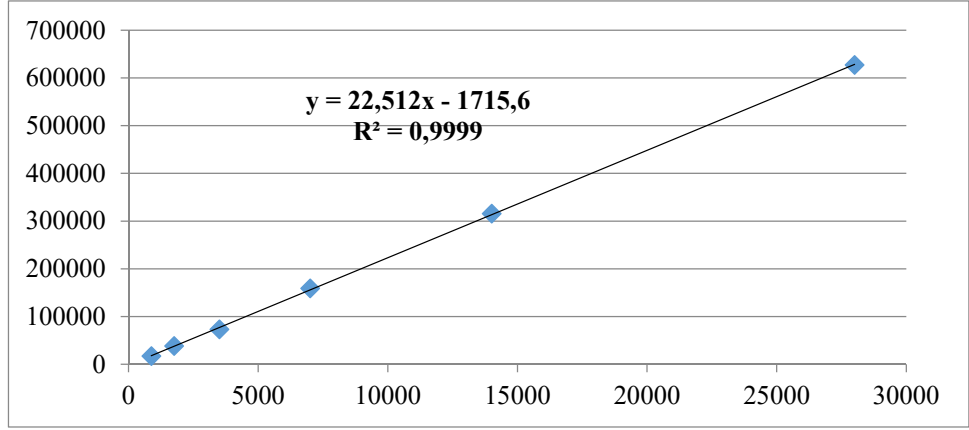
Fermantasyonun 0. ve 48. saatinde inulin, kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarında glikoz, galaktoz, fruktoz, sükroz ve ksiloz analizleri gerçekleştirilmiştir (Sousa ve ark. 2015). Uygulanan analiz yönteminde Shimadzu Prominence Marka HPLC (Tokyo, Japonya) cihazı kullanılmış olup, analiz koşulları şu şekildedir;

- Dedektör: RID-10 A
- Kolon Fırını: CTO-10ASVp
- Pompa: LC20 AT
- Autosampler: SIL 20ACHT
- Bilgisayar Programı: LC Solution
- LOD (Fruktoz, Glukoz, Sucrose): 8,88
- Kolon: Inertsil NH2-5 µm 250 mm *4,6mm
- Mobil faz metanol:su (80:20), kolon sıcaklığı: 30 °C; akış hızı: 1,0 mL/dk

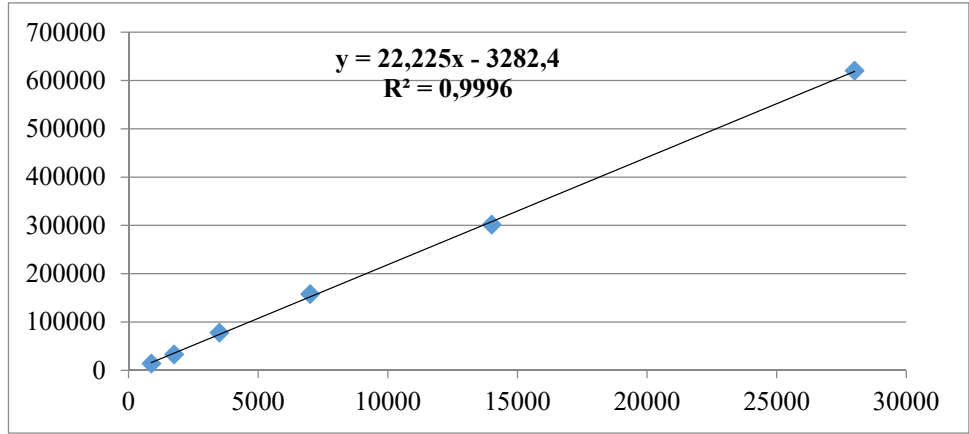
Şeker bileşenlerine ait kalibrasyon grafikleri de Şekil 3.2., 3.3., 3.4., 3.5. ve 3.6.'da verilmiştir.



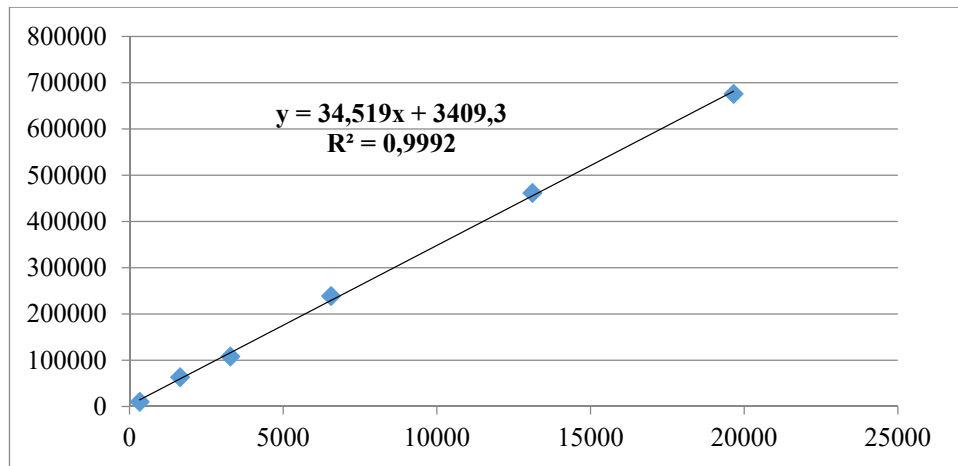
Şekil 3.2. Glikoz standardına ait kalibrasyon grafiği



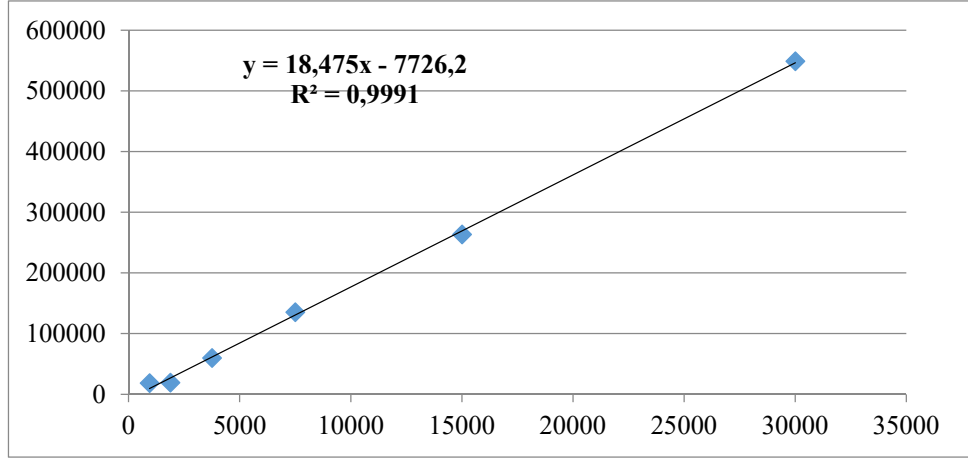
Şekil 3.3. Galaktoz standardına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.4. Fruktoz standardına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.5. Sukroz standardına ait kalibrasyon grafiği

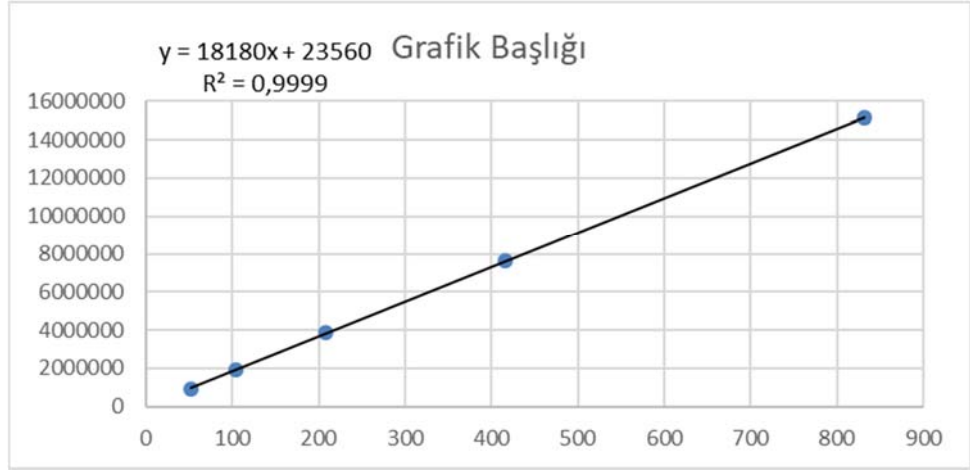


Şekil 3.6. Ksiloz standardına ait kalibrasyon grafiği

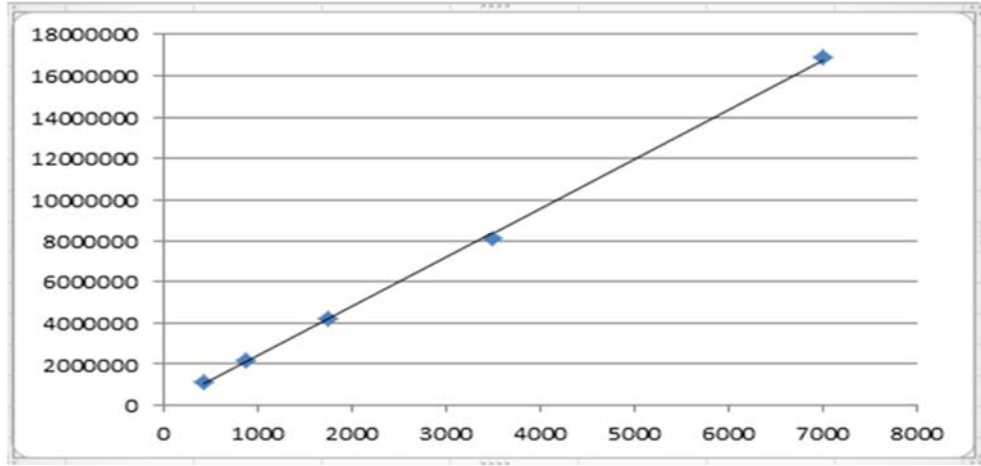
3.6. Laktik Asit ve Kısa Zincirli Yağ Asiti Bileşenleri Analizi

48 saatlik fermantasyon sonunda her bir bakteri tarafından üretilen metabolitlerden laktik, asetik, propiyonik ve bütirik asit analizleri yapılmıştır. Bu amaçla laktik asit analizi için DAD (SPD-M20A) dedektörlü Shimadzu Prominence marka 20ACBM model Yüksek Performans Likit Kromatografi-HPLC (Tokyo, Japonya) cihazı, Inertsil ODS-4 (250 mm* 4,6 mm, 5µm; GP Sciences, Japonya) kolonu, LC20 AT model pompa kullanılmıştır. pH'sı ortofosforik asitle 3'e ayarlanmış ultrasaf su mobil faz olarak ayarlanmıştır. Kısa zincirli yağ asitleri (asetik, propiyonik ve bütirik asit) miktarı ise Agilent 7697A Headspace ve Agilent 7890A GC 5975C MS cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Cihaz için dedektör ve enjektör sıcaklığı 200 °C ve 180 °C, akış hızı 25 psi (He), termostat zamanı 5 dk, basınç zamanı 0.5 dk, enjeksiyon zamanı 0,08 dk ve çizim zamanı 0,5 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. KZYA analizi için 4 g/ 4 mL numune alınarak headspace sistemine enjekte edilmiştir. 35 °C'de 5 dakika bekledikten sonra dakikada 50 °C'lik artışla 150 °C'ye ulaşılmış ve bu sıcaklıkta 5 dakika beklenmiştir (Yılmaz ve Seçilmiş 2006).

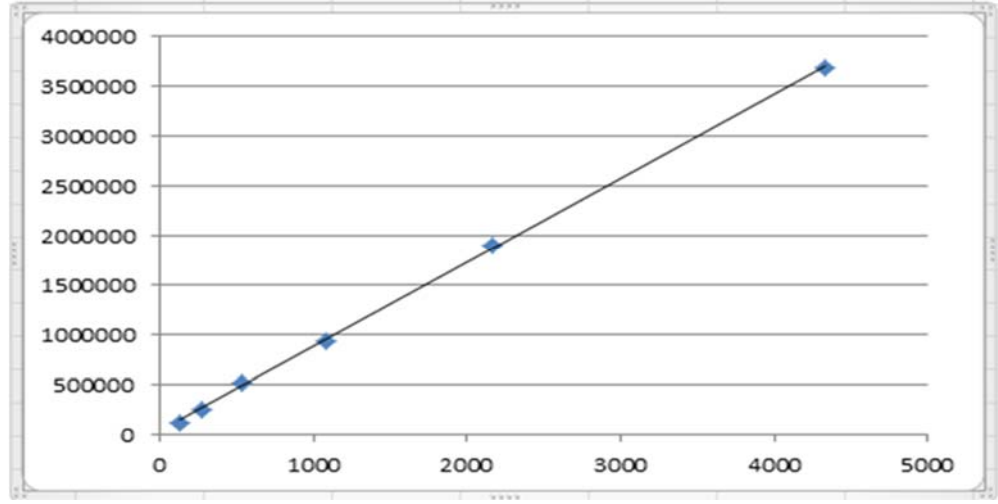
Laktik asit ve kısa zincirli yağ asiti bileşenlerine ait kalibrasyon grafikleri Şekil 3.7., 3.8., 3.9., 3.10.'de verilmiştir.



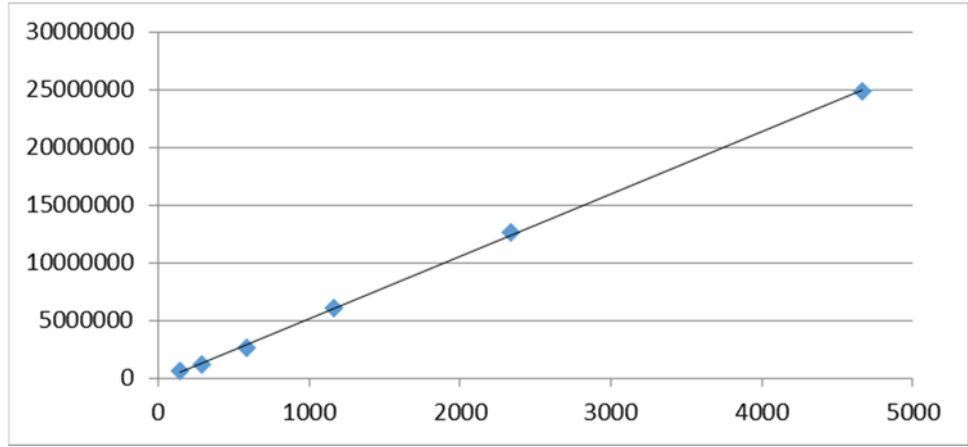
Şekil 3.7. Laktik asit standardına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.8. Asetik asit standardına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.9. Propiyonik asit standardına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.10. Bütirik asit standardına ait kalibrasyon grafiği

3.7. İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları Minitab İstatistik Programı kullanılarak tek yönlü ANOVA (substratlar arası ve fermantasyon süreleri ayrı olarak) ve üç yönlü ANOVA (substrat türleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bu varyasyon kaynakları arasındaki interaksiyon) deneme desenine göre istatistiki olarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

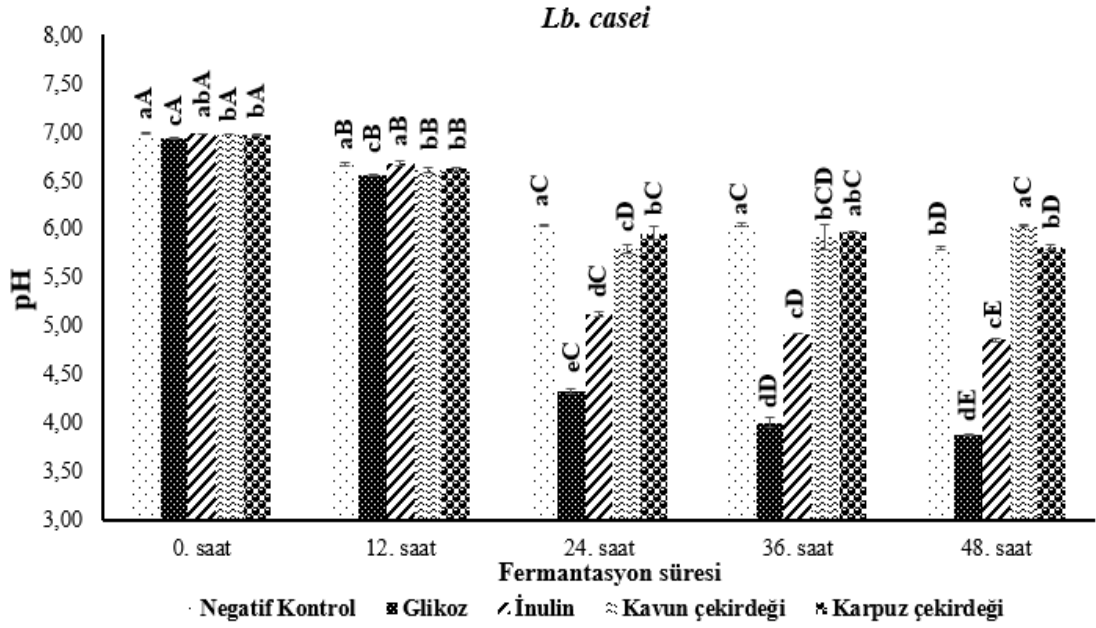
4.1. pH Değeri

Sindirilmeden kolona ulaşan prebiyotik bileşenlerin, kolondaki mikrobiyota tarafından fermente edilmesi sonucu ortamın asitliği artmaktadır. Mikrobiyal ekosistemde pH'nın düşerek asitliğin artması sonucu patojen bakterilerin gelişmesi engellenirken, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi yararlı mikroorganizmaların gelişme/aktivitesi artmaktadır. Bu nedenle bir bileşenin prebiyotik aktivitesini belirlerken mikroorganizmalar tarafından fermente edilebilirliğinin göstergesi olan ortam pH değerinin belirlenmesi kritik bir öneme sahiptir (Usta-Gorgun ve Yilmaz-Ersan 2020).

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında *Lb. casei*'nin fermentasyon yeteneğinin izlenmesi, 48 saat süresince pH ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon süresince meydana gelen pH değerleri Çizelge 4.1. 'de verilmiştir. Örnekler arası pH değerinin 3.88 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren ortam) - 6.99 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.1. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. casei*'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	6,99	6,67	6,03	6,04	5,81
Glikoz	6,93	6,55	4,33	4,00	3,88
İnulin	6,98	6,67	5,12	4,92	4,85
Kavun çekirdeği	6,97	6,60	5,79	5,91	6,03
Karpuz çekirdeği	6,97	6,62	5,95	5,97	5,81
En küçük	6,93	6,55	4,33	4,00	3,88
En büyük	6,99	6,67	6,03	6,04	6,03
Ortalama	6,97	6,62	5,44	5,37	5,28



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

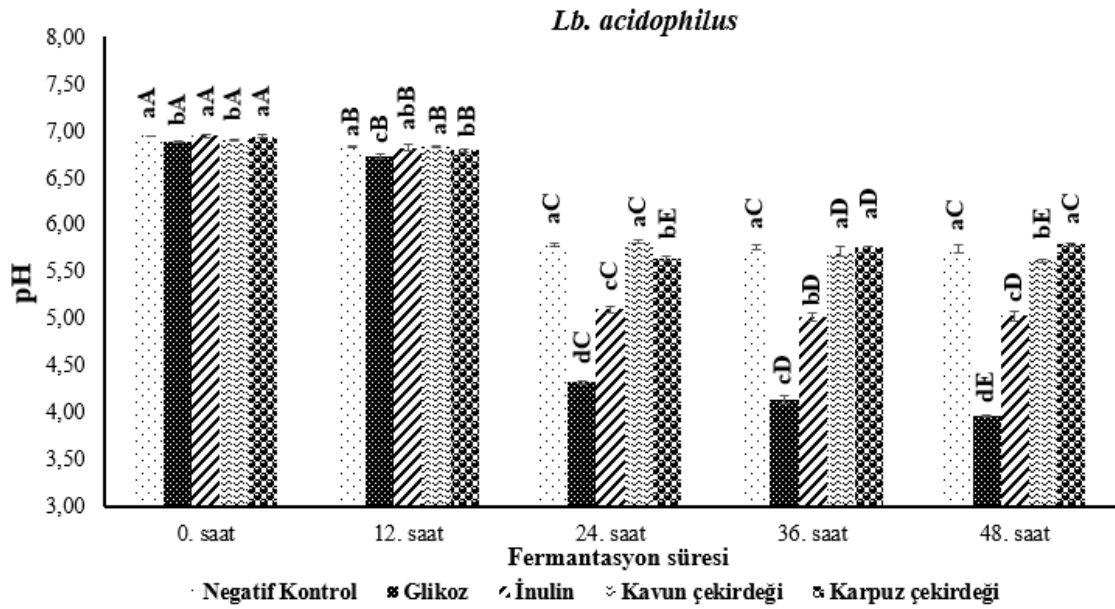
Şekil 4.1. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. casei*'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyon süresince *Lb. casei*'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.1.'de verilmiştir. En yüksek pH değerleri fermentasyonun başlangıcında (0. saat) elde edilmiş olup, fermentasyon süresince mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak pH değeri de azalmıştır. Fermentasyon sonunda (48. saat) en yüksek pH değeri kavun çekirdeği içeren örneklerde saptanmış, en düşük glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. Fermentasyonun ilk 24 saatinde kavun ve karpuz çekirdeği içeren ortamda pH değerlerinin düzenli olarak azaldığı, daha sonra ise stabil olmadığı belirlenmiştir.

Farklı substratlar içeren besi ortamında *Lb. acidophilus*'un aktivitesi sonucu oluşan pH değerleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Örnekler arası pH değerinin 3.96 (fermentasyonun 48. saati glikoz içeren ortam) - 6.94 (fermentasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.2. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. acidophilus*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	6,94	6,83	5,79	5,76	5,74
Glikoz	6,88	6,72	4,32	4,14	3,96
İnulin	6,94	6,82	5,09	5,01	5,03
Kavun çekirdeği	6,90	6,83	5,81	5,71	5,61
Karpuz çekirdeği	6,94	6,79	5,63	5,76	5,79
En küçük	6,88	6,72	4,32	4,14	3,96
En büyük	6,94	6,83	5,81	5,76	5,79
Ortalama	6,92	6,80	5,33	5,28	5,23



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.2. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. acidophilus*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

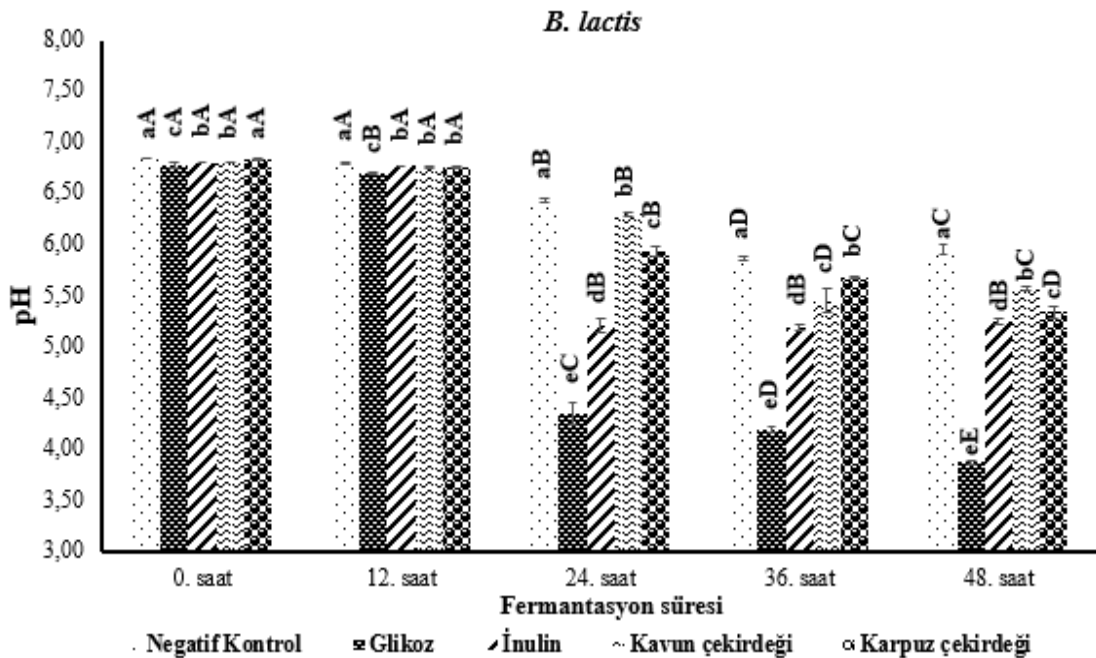
Lb. acidophilus'un fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.2.'de verilmiştir. En yüksek pH değerleri 0. saatte, en düşük ise 48. saatte kaydedilmiştir. Kavun çekirdeği içeren örneklerde en düşük pH değeri fermentasyonun 48. saatinde, karpuz çekirdeği içeren örneklerde ise en düşük fermentasyonun 36. saatinde kaydedilmiştir. 36 saatlik

fermantasyon süresince glikoz ve inulinde olduğu gibi bu örneklerde de pH'da azalma saptanmıştır.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında *B. lactis*'in fermentasyon aktivitesinin izlenmesi, 48 saat süresince pH ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon süresince oluşan pH değerleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Örnekler arası pH değerinin 3.87 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) - 6.84 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.3. 48 saatlik fermentasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	6,84	6,80	6,43	5,87	5,96
Glikoz	6,78	6,70	4,35	4,20	3,87
İnulin	6,81	6,77	5,22	5,19	5,25
Kavun çekirdeği	6,81	6,76	6,30	5,46	5,57
Karpuz çekirdeği	6,83	6,76	5,94	5,68	5,35
En küçük	6,78	6,70	4,35	4,20	3,87
En büyük	6,84	6,80	6,43	5,87	5,96
Ortalama	6,81	6,76	5,65	5,28	5,20



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

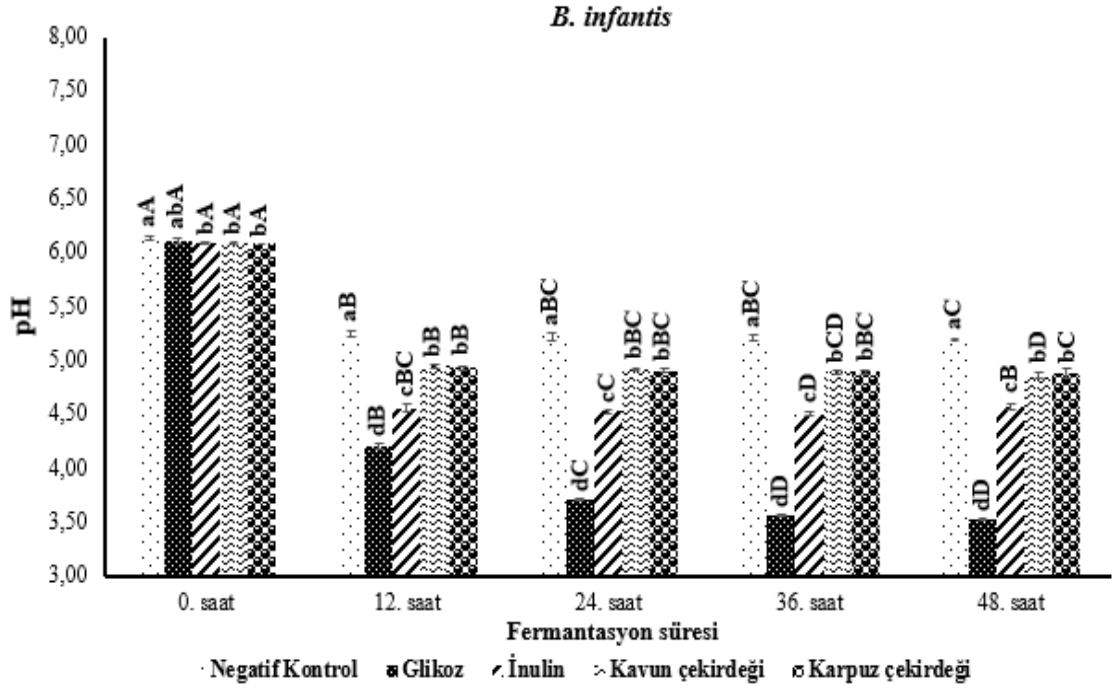
Şekil 4.3. 48 saatlik fermentasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermantasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.3.'de verilmiştir. Fermantasyonun başlangıcında en yüksek olan pH değeri fermantasyon süresince azalmıştır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde karpuz çekirdeği içeren örneklerin kavun çekirdeği içeren besi ortamına göre daha düşük pH değerine sahip olduğu saptanmıştır. Kavun çekirdeği içeren ortamın pH değerinin fermantasyonun 36. saatine kadar düzenli olarak azaldığı saptanmıştır.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında *B. infantis*'in fermantasyon aktivitesinin izlenmesi, 48 saat süresince pH ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon süresince oluşan pH değerleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Örnekler arası pH değerinin 3.54 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) - 6.14 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.4. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. infantis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	6,14	5,25	5,23	5,21	5,19
Glikoz	6,11	4,20	3,71	3,57	3,54
İnulin	6,09	4,56	4,53	4,51	4,58
Kavun çekirdeği	6,09	4,96	4,93	4,90	4,87
Karpuz çekirdeği	6,09	4,94	4,91	4,90	4,88
En küçük	6,09	4,20	3,71	3,57	3,54
En büyük	6,14	5,25	5,23	5,21	5,19
Ortalama	6,11	4,77	4,61	4,55	4,54



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.4. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. infantis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

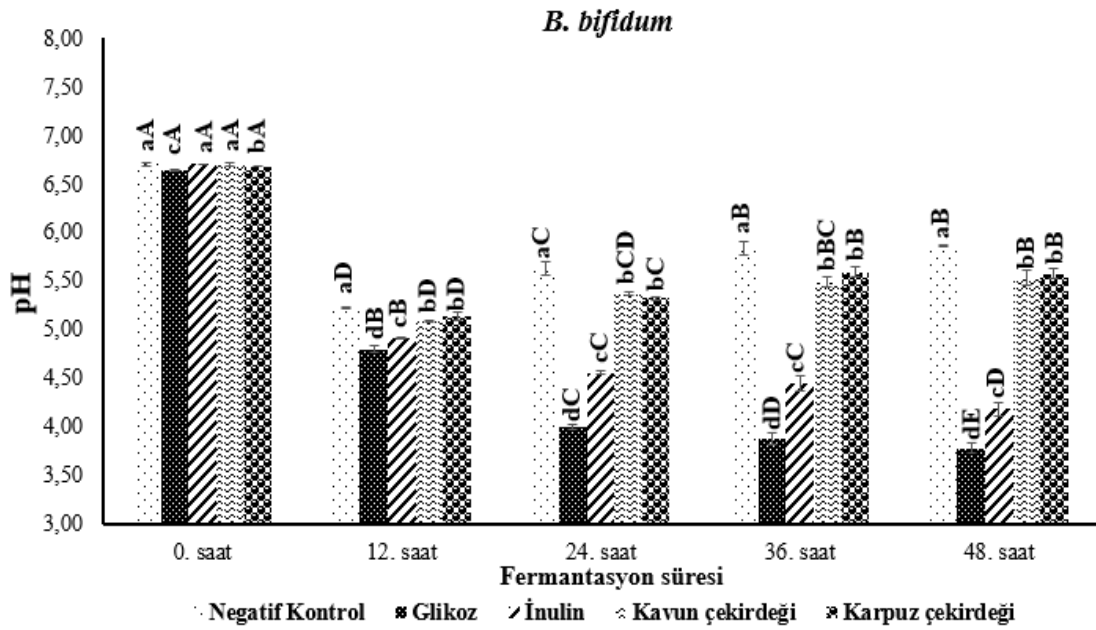
Fermantasyon süresince *B. infantis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri incelendiğinde (Şekil 4.4.), glikoz içeren besi ortamında pH düzenli olarak azalırken, inulin içeren besi ortamında 36. saate kadar azalma kaydedilmiş olup 36. ve 48. saatlerde glikoz içeren örneklerin, pH'ları aynı grupta yer almıştır. Karpuz ve kavun çekirdeği içeren besi ortamında örneklerin pH'ları 48. saate kadar azalma göstermiştir.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında *B. bifidum*'un fermantasyon aktivitesinin izlenmesi, 48 saat süresince pH ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon süresince oluşan pH değerleri Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Örnekler arası pH değerinin 3.78 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) - 6.70 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.5. 48 saatlik fermentasyon *B. bifidum*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	6,70	5,23	5,63	5,84	5,87
Glikoz	6,64	4,80	4,00	3,87	3,78
İnulin	6,70	4,91	4,56	4,45	4,18
Kavun çekirdeği	6,70	5,09	5,37	5,49	5,53
Karpuz çekirdeği	6,68	5,13	5,32	5,59	5,57
En küçük	6,64	4,80	4,00	3,87	3,78
En büyük	6,70	5,23	5,63	5,84	5,87
Ortalama	6,69	5,03	4,97	5,05	4,99

B. bifidum'un fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.5.'de verilmiştir. Karpuz ve kavun çekirdeği içeren örneklerde en düşük pH değerleri fermentasyonun 12. saatinde kaydedilmiş olup, fermentasyon süresince bu değerler stabil olmayan artış ve azalış göstermiştir.



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.5. 48 saatlik fermentasyon süresince *B. bifidum*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki pH değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

4.2. Hücre Yoğunluğu (OD)

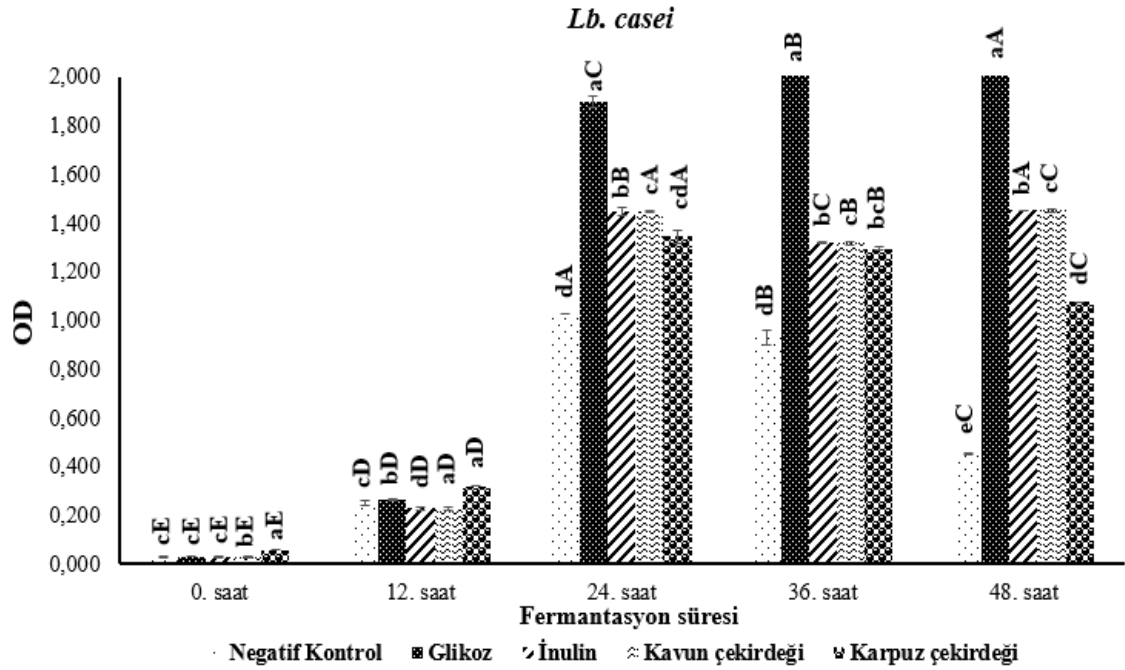
Optik yoğunluk olarak da adlandırılan hücre yoğunluğu ölçümleri, mikrobiyoloji laboratuvarlarında mikrobiyal gelişmeyi saptamak amacı ile kullanılan indirek sayım yöntemlerinden biridir. OD genel olarak fermantasyon ya da inkübasyon aşamasında hem kültürün bulanıklığını nitel olarak hem de bir yol boyunca iletilen ışığın yoğunluğunu nicel olarak ölçmek için kullanılmaktadır. Hücre kuru ağırlığını ya da konsantrasyonunu ölçmek için kullanılan mikrobiyolojik ekim (kob/mL) ya da hemositometri gibi uzun süreli prosedürlere gerek kalmadan biyokütle ile direkt ilişkili olan OD ölçümüyle hücre konsantrasyonu direkt olarak izlenebilmektedir. Bu tür ölçümler, kültür tarafından saçılan ışığın miktarına bağlı olduğundan, OD değeri kültüre ulaşan ışık dalga boyuna bağlıdır. Pratikte, mikroorganizma kültürlerinin OD ölçümleri, ortamdaki veya bakteri içindeki moleküllerin emilimine karşılık gelen herhangi bir dalga boyundan kaçınmaya izin veren değer olan 600 nm’de yapılmaktadır. OD ölçümleri kullanılan optik sisteme ve geometrisine (dedektörün alanı ve duyarlılığı, dedektör ve örnek arasındaki mesafe gibi) bağlıdır (Myers ve ark. 2013).

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında *Lb. casei*’nin fermantasyon süresince gelişiminin izlenmesi, OD değerleri ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon süresince ölçülen OD değerleri Çizelge 4.6.’de verilmiştir. Örnekler arası OD değerlerinin 0.027 (fermantasyonun 0. saati negatif kontrol) - 2.281 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.6. 48 saatlik fermantasyon süresince *Lb. casei*’nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	0,027	0,252	1,026	0,932	0,452
Glikoz	0,030	0,267	1,900	2,203	2,281
İnulin	0,027	0,228	1,447	1,318	1,451
Kavun çekirdeği	0,027	0,228	1,447	1,318	1,451
Karpuz çekirdeği	0,059	0,322	1,345	1,294	1,076
En küçük	0,027	0,228	1,026	0,932	0,452
En büyük	0,059	0,322	1,900	2,203	2,281
Ortalama	0,034	0,259	1,433	1,413	1,342

Fermantasyon süresince *Lb. casei*'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistikler değerlendirmeler Şekil 4.6.'de verilmiştir. Fermantasyon süresince glikoz ve inulin içeren ortamda OD değerleri düzenli olarak artış gösterirken, kavun ve karpuz çekirdeği bulunan ortamlarda ise OD değerlerinin fermantasyonun ilk 24 saati artış gösterdiği belirlenmiştir. Fermantasyon süresince en yüksek OD değeri pozitif kontrol olan glikoz içeren besi ortamında saptanmış olup, bu örneği aynı değerde olan inülin ve kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği içeren örnekler izlemiştir. Fermantasyon süresince kavun çekirdeği içeren örneklerin karpuz çekirdeği içeren örneklere göre daha yüksek OD değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.01$)

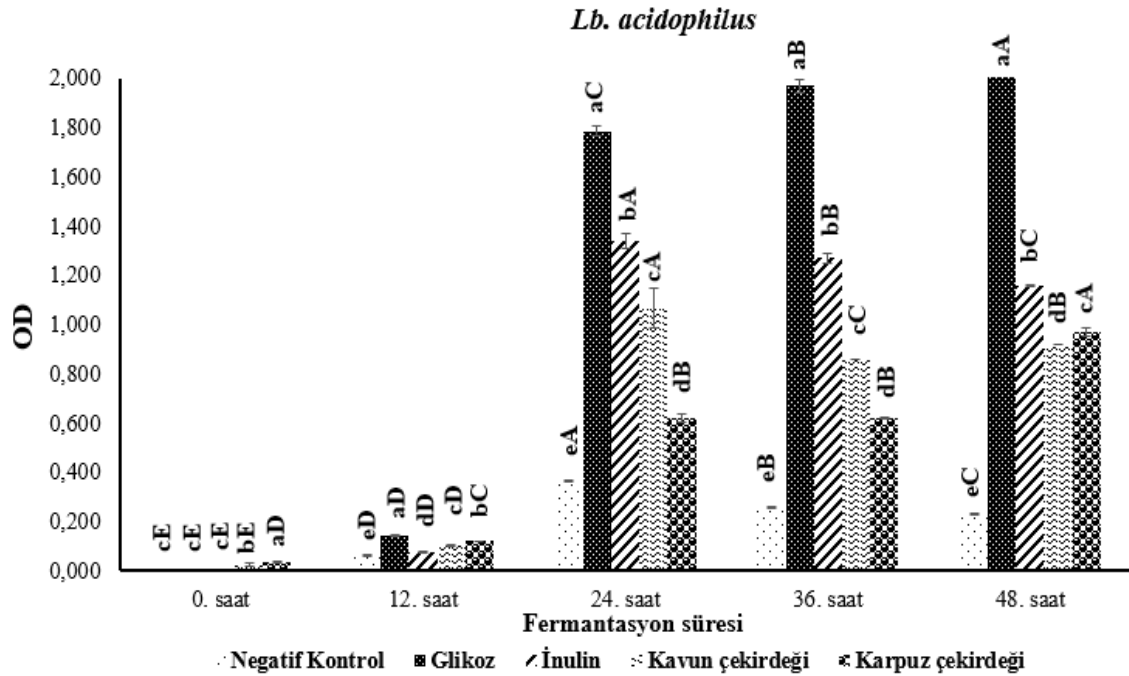
^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.01$)

Şekil 4.6. 48 saatlik fermantasyon süresince *Lb. casei*'nin farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermantasyon süresince *Lb. acidophilus*'un OD değerlerinin 0.002 (fermantasyonun 0. saati inulin içeren örnek) - 2.069 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. acidophilus*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	0,006	0,063	0,365	0,257	0,230
Glikoz	0,003	0,145	1,786	1,970	2,069
İnulin	0,002	0,074	1,342	1,270	1,159
Kavun çekirdeği	0,024	0,105	1,067	0,860	0,920
Karpuz çekirdeği	0,039	0,122	0,621	0,623	0,969
En küçük	0,002	0,063	0,365	0,257	0,230
En büyük	0,039	0,145	1,786	1,970	2,069
Ortalama	0,015	0,102	1,036	0,996	1,069



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.7. 48 saatlik fermentasyon süresince *Lb. acidophilus*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

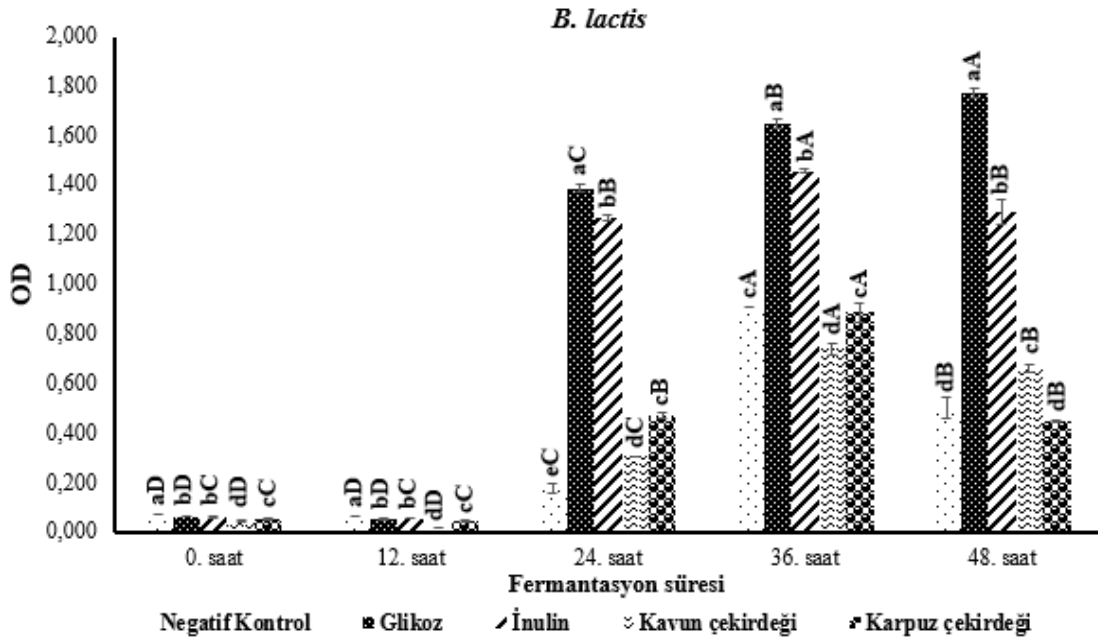
Fermentasyon süresince *Lb. acidophilus*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.7.'de verilmiştir. Fermentasyonun 12. saatinde kavun ve karpuz çekirdeği içeren örneklerin OD değerlerinin pozitif kontrol örneği olan inulinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Karpuz çekirdeği içeren örneklerde fermentasyon süresince OD değerleri düzenli artış göstermiştir. Kavun

çekirdeği içeren örnekte ise en yüksek OD değeri fermantasyonun 24. saatinde saptanmıştır.

Fermantasyon süresince ölçülen *B. lactis*'e ait OD değerleri Çizelge 4.8.'de verilmiştir. Örnekler arası OD değerinin 0.020 (fermantasyonun 12. saati kavun çekirdeği içeren örnek) - 1.775 (fermantasyonun 48. saati glikoz içeren örnek) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.8. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	0,075	0,067	0,178	0,911	0,505
Glikoz	0,067	0,058	1,389	1,649	1,775
İnulin	0,064	0,060	1,268	1,458	1,295
Kavun çekirdeği	0,050	0,020	0,309	0,742	0,664
Karpuz çekirdeği	0,057	0,046	0,474	0,888	0,453
En küçük	0,050	0,020	0,178	0,742	0,453
En büyük	0,075	0,067	1,389	1,649	1,775
Ortalama	0,063	0,050	0,724	1,130	0,938



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

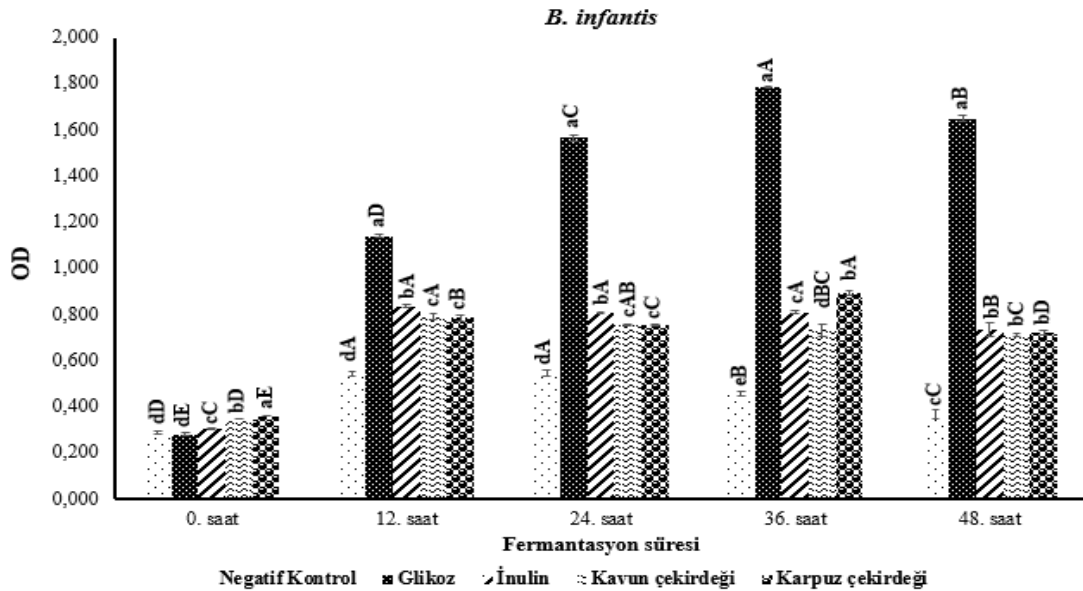
Şekil 4.8. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermantasyon süresince *B. lactis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.8.'de verilmiştir. Fermantasyon sürecindeki OD değerindeki en yüksek artış glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. Karpuz ve kavun çekirdeği içeren örneklerin OD değerleri fermantasyonun 36. saatine kadar düzenli olarak artış göstermiştir.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermantasyon süresince *B. infantis*'in OD değerleri 0.283 (fermantasyonun 0. saati glikoz içeren örnek) - 1.785 (fermantasyonun 36. saati glikoz içeren örnek) arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. infantis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	0,290	0,546	0,550	0,461	0,369
Glikoz	0,283	1,141	1,567	1,785	1,649
İnulin	0,305	0,837	0,812	0,812	0,738
Kavun çekirdeği	0,349	0,792	0,757	0,734	0,712
Karpuz çekirdeği	0,362	0,787	0,754	0,896	0,722
En küçük	0,283	0,546	0,550	0,461	0,369
En büyük	0,362	1,141	1,567	1,785	1,649
Ortalama	0,319	0,827	0,937	0,990	0,887



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

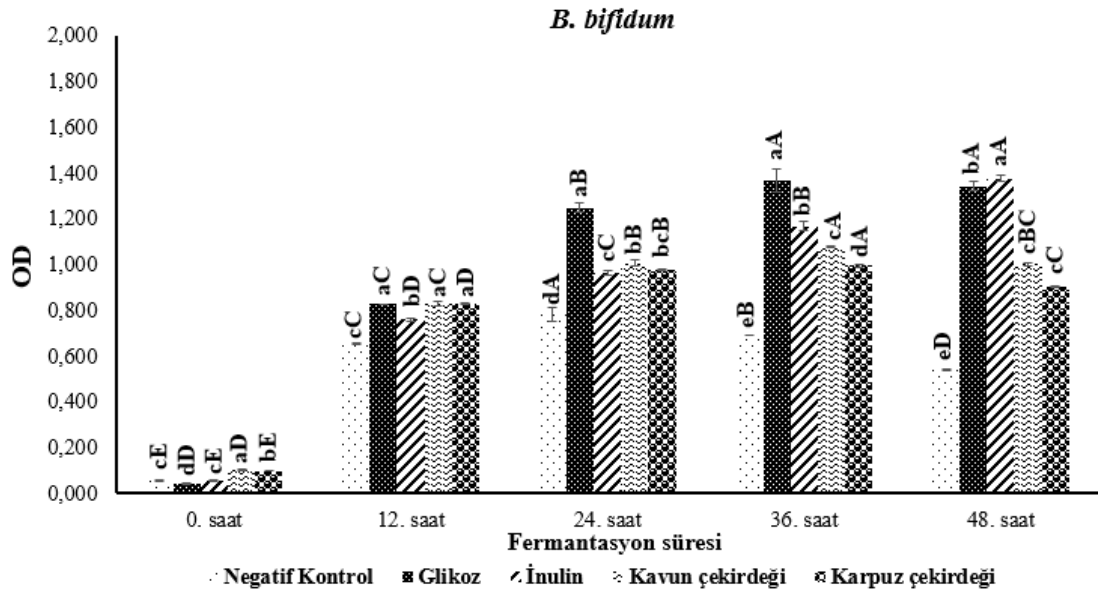
Şekil 4.9. 48 saatlik fermantasyon süresince *B. infantis*'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

B. infantis'in farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri incelendiğinde fermentasyon süresince en yüksek artış glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır (Şekil 4.9.). Fermentasyon süresince inülin, kavun ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarında elde edilen OD değerlerinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermentasyon süresince *B. bifidum*'a ait OD değerleri 0.044 (fermantasyonun 0. saati glikoz içeren örnek) - 1.376 (fermantasyonun 48. saati inulin içeren örnek) arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. 48 saatlik fermentasyon süresince *B. bifidum*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)				
	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat
Negatif Kontrol	0,056	0,654	0,781	0,691	0,542
Glikoz	0,044	0,827	1,247	1,368	1,343
İnulin	0,058	0,761	0,963	1,168	1,376
Kavun çekirdeği	0,104	0,827	1,007	1,076	1,003
Karpuz çekirdeği	0,098	0,828	0,979	0,994	0,905
En küçük	0,044	0,654	0,781	0,691	0,542
En büyük	0,104	0,828	1,247	1,368	1,376
Ortalama	0,072	0,779	0,995	1,059	1,034



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.10. 48 saatlik fermentasyon süresince *B. bifidum*'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

B. bifidum'un farklı substratlar içeren besi ortamındaki OD değerleri fermantasyon süresince artış göstermiş olup, en yüksek artış inülin içeren besi ortamında saptanmıştır (Şekil 4.10.). Fermantasyonun 12. saatinde glikoz ve kavun çekirdeği içeren örneklerin OD değerleri benzer saptanmış olup, istatistiksel olarak aynı grupta yer almışlardır. Ayrıca bu saatte karpuz ve kavun çekirdeği içeren örneklerin OD değerlerinin inülin içeren besi ortamındaki OD değerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Araştırmada yapılan pH ve OD analizlerine ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Yapılan varyans analizine göre, tüm varyasyon kaynakları ve bunlar arasındaki interaksiyon $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Fermantasyon süresince ortalama değerler incelendiğinde en yüksek pH değeri negatif kontrol örneğinde saptanırken, en düşük pH değeri glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. pH'nın aksine en yüksek OD değeri glikoz içeren örnekte saptanmış olup, bu örneği inülin içeren örnek izlemiştir. Kavun çekirdeği ve karpuz çekirdeği örneklerinin pH değerlerinin istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. OD değeri olarak da kavun çekirdeği örneklerinin karpuz çekirdeğine göre daha yüksek OD'ye sahip olduğu belirlenmiştir. Bakteri türleri arasında en yüksek pH değerine *Lb. casei* ve *B. lactis*'in sahip olduğu, bu bakteriyi *Lb. acidophilus*, *B. bifidum* ve *B. infantis*'in izlediği saptanmıştır. Bakteri türlerinin OD değerleri incelendiğinde en yüksek OD değerinin *Lb. casei*'ye ait olduğu bu bakteriyi *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. lactis* ve *Lb. acidophilus*'un izlediği belirlenmiştir. Fermantasyon süreleri incelendiğinde pH değerinin azaldığı ve OD değerlerinin arttığı saptanmış olup, en yüksek pH değeri 0. saatte, en yüksek OD değeri ise 48. saatte saptanmıştır. pH ve OD değerleri incelendiğinde 24. saatte örneklerin istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Kavun ve karpuz çekirdeğinin heterojenik karbonhidrat bileşimi benzer asitlendirme ve bakteri gelişimine neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.11. pH ve OD analizlerine ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları

Substrat çeşitleri	N	pH	OD
Kontrol	75	6,03 ^a	0,411 ^e
Glikoz	75	4,87 ^d	1,154 ^a
İnulin	75	5,43 ^c	0,812 ^b
Kavun çekirdeği	75	5,88 ^b	0,650 ^c
Karpuz çekirdeği	75	5,87 ^b	0,629 ^d
Bakteri türleri			
<i>Lb. casei</i>	75	5,94 ^a	0,883 ^a
<i>Lb. acidophilus</i>	75	5,91 ^b	0,644 ^d
<i>B. lactis</i>	75	5,94 ^a	0,581 ^e
<i>B. infantis</i>	75	4,96 ^d	0,760 ^c
<i>B. bifidum</i>	75	5,34 ^c	0,788 ^b
Fermantasyon süresi (ssat)			
0	75	6,69 ^a	0,101 ^e
12	75	6,00 ^b	0,406 ^d
24	75	5,21 ^c	1,011 ^c
36	75	5,12 ^d	1,105 ^a
48	75	5,06 ^e	1,033 ^b
ANOVA			
Substrat çeşitleri		**	**
Bakteri türleri		**	**
Fermantasyon süresi		**	**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri		**	**
Substrat çeşitleri x Fermantasyon süresi		**	**
Bakteri türleri x Fermantasyon süresi		**	**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri x Fermantasyon süresi		**	**

* Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.01); ** p<0.01; * p<0.05

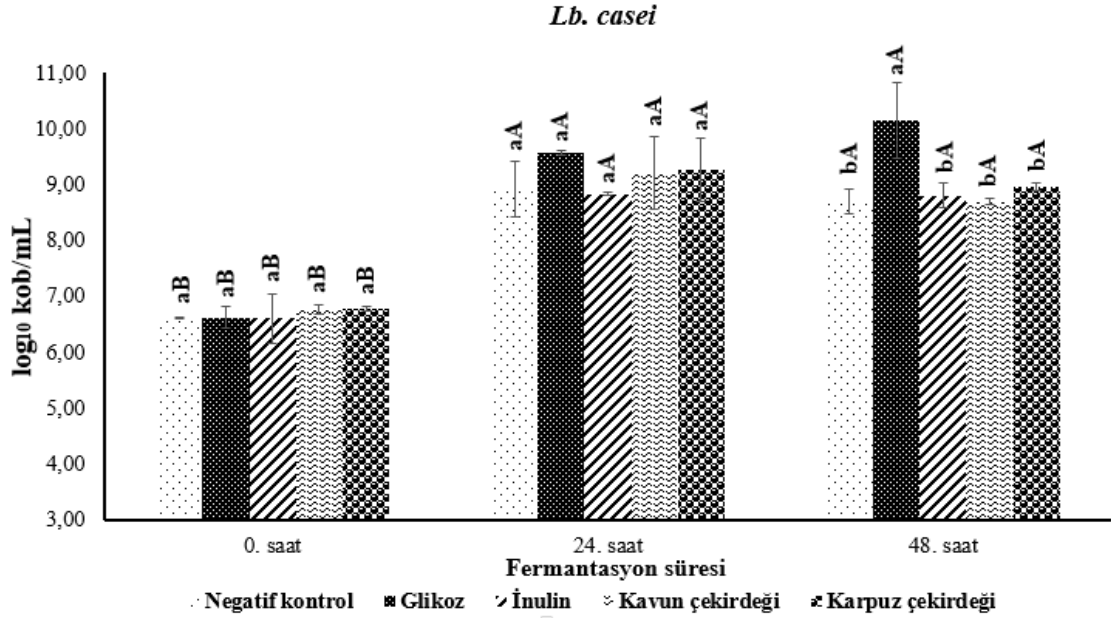
Al-Thubiani ve Khan (2017), hurma çekirdeğinin prebiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, besi ortamında karbon kaynağı olarak hurma çekirdeği unu kullanmışlardır. Hurma çekirdeği unu ilaveli MRS besi ortamında *Lactobacillus casei* suşunun asitlik geliştirme aktivitesi incelenmiştir. Fermantasyonun başlangıcında 6.2 pH olan besi ortamı asitliğinin 96 saatlik fermantasyon sonunda 3.9'a düştüğünü belirlemişlerdir. Fermantasyon süresince pH'nın azalmasına karşılık mikroorganizma sayısının arttığını saptamışlardır. pH ve OD pozitif kontrol olan glikoz değerine yakın olması probiyotik bakterilerin bu ürünü fermente edebildiğini göstermektedir. Daha fazla bakteri türü ile çalışması kesin yargıya ulaşmakta yardımcı olacaktır.

4.3. Mikroorganizma Sayısı

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında mikroorganizmaların gelişimi fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde mikrobiyolojik ekim yapılarak da izlenmiştir. *Lb. casei*'ye ait mikroorganizma sayısı en düşük (6,60) fermantasyonun 0. saatinde inulin içeren besi ortamında, en yüksek (10,15) ise 48. saatinde glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. casei*'ye ait mikroorganizma sayısı (Log₁₀ kob/mL)

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)		
	0. saat	24. saat	48. saat
Negatif kontrol	6,62	8,92	8,70
Glikoz	6,62	9,57	10,15
İnulin	6,60	8,83	8,80
Kavun çekirdeği	6,76	9,21	8,69
Karpuz çekirdeği	6,77	9,27	8,95
En küçük	6,60	8,83	8,69
En büyük	6,77	9,57	10,15
Ortalama	6,67	9,16	9,06



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

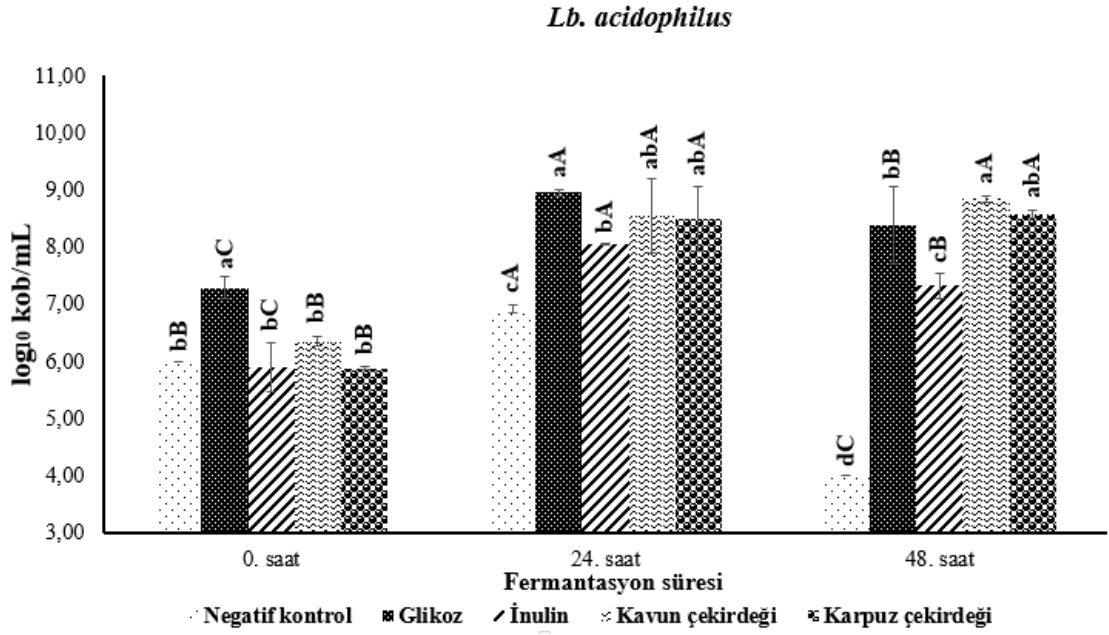
Şekil 4.11. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. casei*'ye ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. casei*'ye ait mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.11.'de verilmiştir. Fermantasyonun ilk 24 saatinde mikroorganizma sayısının artış gösterdiği saptanmıştır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde tüm besi ortamlarında saptanan mikroorganizma sayısının istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0.05$).

Fermantasyon süresince *Lb. acidophilus*'a ait mikroorganizma sayısı, en düşük (4,00) fermantasyonun 48. saatinde karbonhidrat kaynağı içermeyen (negatif) besi ortamında, en yüksek (8,95) ise 24. saatinde glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4.13. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. acidophilus*'a ait mikroorganizma sayısı (Log_{10} kob/mL)

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)		
	0. saat	24. saat	48. saat
Negatif kontrol	6,00	6,91	4,00
Glikoz	7,28	8,95	8,39
İnulin	5,88	8,04	7,32
Kavun çekirdeği	6,34	8,55	8,84
Karpuz çekirdeği	5,88	8,49	8,58
En küçük	5,88	6,91	4,00
En büyük	7,28	8,95	8,84
Ortalama	6,28	8,19	7,43



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

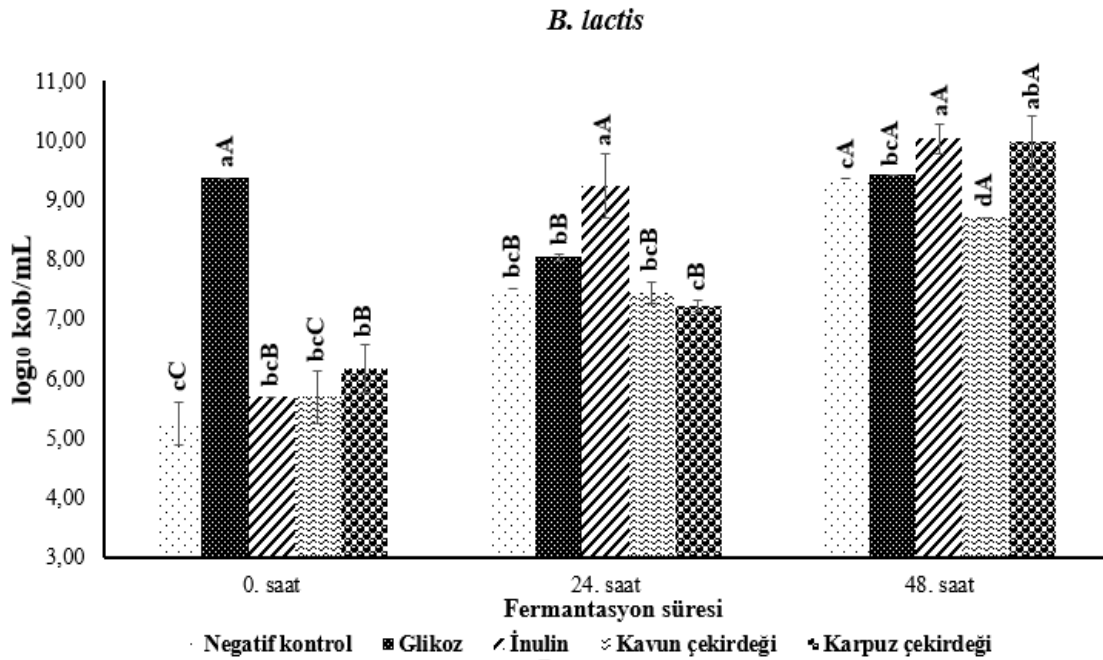
Şekil 4.12. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. acidophilus*'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *Lb. acidophilus*'a ait mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.12.'de verilmiştir. Fermantasyon süresince pozitif kontrol olan glikoz içeren besi ortamında 24. saatte en yüksek mikroorganizma sayısı saptanmış olup, 48. saatte azaldığı belirlenmiştir. Fermantasyon süresince kavun ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamında mikroorganizma sayılarının düzenli olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Fermantasyonun 24. saatinde kavun ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamındaki mikroorganizma sayılarının istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde kavun ve karpuz çekirdeği içeren ortamlardaki mikroorganizma sayısının pozitif kontrol olan inulin içeren ortamdan daha yüksek olduğu saptanmıştır. 48. saatinde ise her iki test grubuna ait mikroorganizma sayısı glikoz içeren besi ortamından daha yüksek saptanmıştır.

Fermantasyon süresince *B. lactis*'e ait mikroorganizma sayısı en düşük (5,25) fermantasyonun 0. saatinde karbonhidrat kaynağı içermeyen (negatif) besi ortamında, en yüksek (10,03) ise 48. saatinde inulin içeren besi ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.14. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. lactis*'e ait mikroorganizma sayısı (Log₁₀ kob/mL)

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi (saat)		
	0. saat	24. saat	48. saat
Negatif kontrol	5,25	7,51	9,36
Glikoz	9,36	8,04	9,42
İnulin	5,70	9,24	10,03
Kavun çekirdeği	5,69	7,45	8,70
Karpuz çekirdeği	6,17	7,23	9,98
En küçük	5,25	7,23	8,70
En büyük	9,36	9,24	10,03
Ortalama	6,44	7,89	9,50



^a; Küçük harfler bir fermantasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermantasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.13. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. lactis*'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri

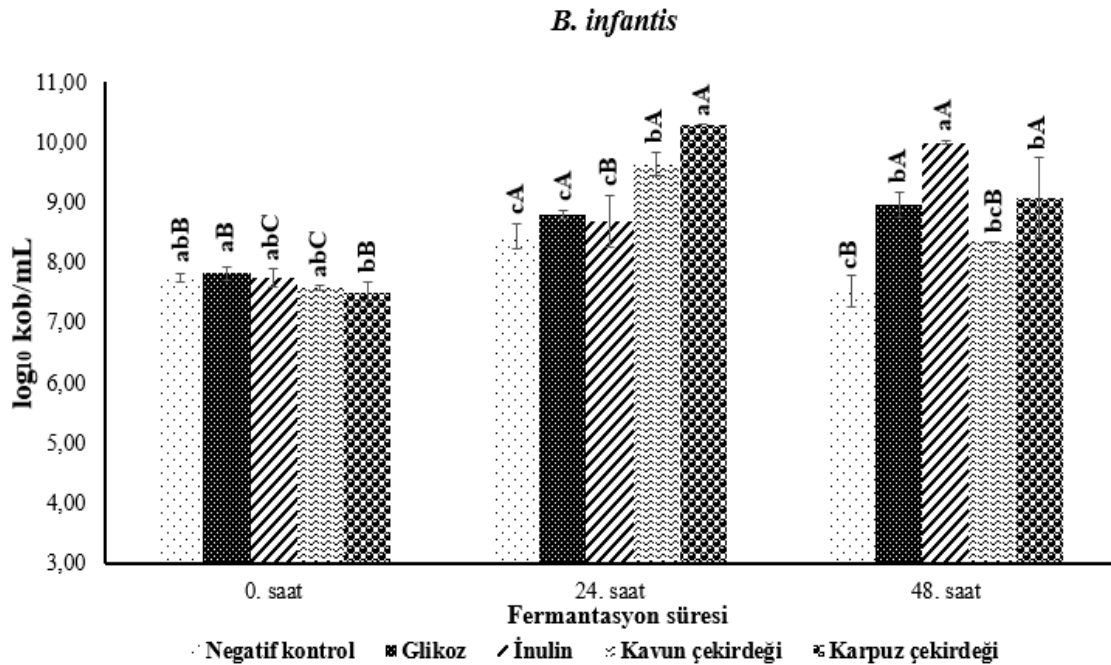
Fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. lactis*'e ait mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirmeler Şekil 4.13.'de verilmiştir. Fermantasyon süresince tüm substrat çeşitleri için mikroorganizma sayılarında düzenli artış saptanmıştır. Fermantasyonun 48. saatinde karpuz çekirdeği içeren besi ortamında

mikroorganizma sayısının pozitif kontrol olan glikozdan daha yüksek ve inulin ile benzer olduğu saptanmıştır.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermentasyon süresince *B. infantis*'e ait mikroorganizma sayısı en düşük (7,51) fermentasyonun 0. saatinde karpuz çekirdeği içeren besi ortamında, en yüksek (10,30) ise fermentasyonun 24. saatinde aynı besi ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. 48 saatlik fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. infantis*'e ait mikroorganizma sayısı (Log₁₀ kob/mL)

Substrat çeşitleri	Fermentasyon süresi (saat)		
	0. saat	24. saat	48. saat
Negatif kontrol	7,74	8,44	7,52
Glikoz	7,82	8,80	8,96
İnulin	7,74	8,70	9,99
Kavun çekirdeği	7,58	9,64	8,34
Karpuz çekirdeği	7,51	10,30	9,08
En küçük	7,51	8,44	7,52
En büyük	7,82	10,30	9,99
Ortalama	7,68	9,17	8,78



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

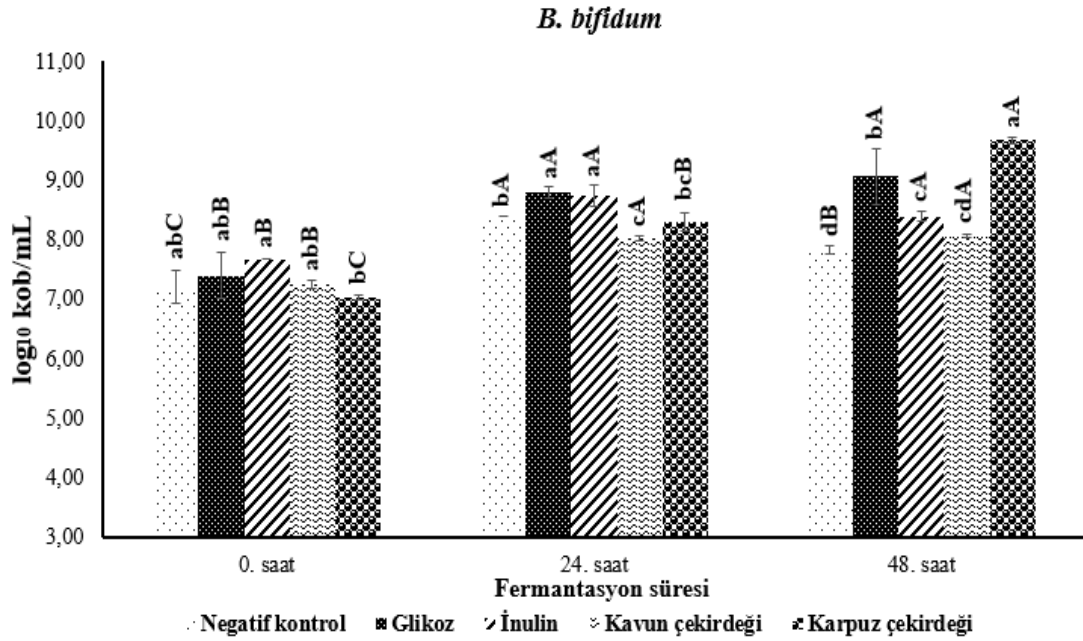
Şekil 4.14. 48 saatlik fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. infantis*'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. infantis*'e ait mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.14.'de verilmiştir. Fermantasyonun 24. saatinde en yüksek mikroorganizma sayısı karpuz çekirdeği ve daha sonra ise kavun çekirdeği içeren besi ortamında saptanmıştır. Fermantasyonun ilk 24 saatinde tüm substratlardaki mikroorganizma sayısı artarken, 24 ile 48 saatleri arasında negatif kontrol ve kavun çekirdeği içeren ortamlardaki mikroorganizma sayısının azaldığı belirlenmiştir. Fermantasyonun 48. saatinde en yüksek mikroorganizma sayısı inulin içeren besi ortamında saptanmış olup, bu örneği karpuz çekirdeği, glikoz, kavun çekirdeği içeren örnekler izlemiştir. Bu saatte glikoz ve karpuz çekirdeği içeren örneklerin istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir.

Farklı karbonhidrat kaynakları içeren besi ortamlarında fermantasyon süresince saptanan *B. bifidum*'a ait mikroorganizma sayısı en düşük (7,03) fermantasyonun 0. saatinde karpuz çekirdeği içeren besi ortamında, en yüksek (9,67) ise 48. saatinde de aynı ortamda saptanmıştır (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. 48 saatlik fermantasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. bifidum*'a ait mikroorganizma sayısı (Log₁₀ kob/mL)

Substrat çeşitleri	Fermantasyon süresi(saat)		
	0. saat	24. saat	48. saat
Negatif kontrol	7,20	8,38	7,82
Glikoz	7,39	8,79	9,06
İnulin	7,67	8,73	8,39
Kavun çekirdeği	7,25	8,02	8,06
Karpuz çekirdeği	7,03	8,30	9,67
En küçük	7,03	8,02	7,82
En büyük	7,67	8,79	9,67
Ortalama	7,31	8,45	8,60



^a; Küçük harfler bir fermentasyon süresindeki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın her fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.15. 48 saatlik fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. bifidum*'a ait mikroorganizma sayısı ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyon süresince farklı substratlar içeren besi ortamındaki *B. bifidum*'a ait mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.15.'de verilmiştir. Negatif kontrol harici tüm ortamlarda mikroorganizma sayılarında fermentasyon süresince artış saptanmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde en yüksek mikroorganizmanın karpuz çekirdeği içeren besi ortamında olduğu belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik ekim sonucu elde edilen mikroorganizma sayılarına ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermentasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları Çizelge 4.17.'de verilmiştir. Tüm varyasyon kaynaklarının ve aralarındaki interaksyonun istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.01$). Substrat çeşitleri arasında fermentasyon süresince en yüksek mikroorganizma sayısı pozitif kontrol olan glikoz içeren besi ortamında saptanmış olup, bu örneği karpuz çekirdeği, inulin ve kavun çekirdeği içeren örnekler izlemiştir. Mikroorganizma türlerine göre, en yüksek mikroorganizma sayısı *B. infantis*'de saptanmış olup, bu mikroorganizmayı, *Lb. casei*, *B. bifidum*, *B. lactis* ve *Lb. acidophilus*'un izlediği belirlenmiştir. *B. lactis* ve *B. bifidum*'un istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı

saptanmıştır. Fermantasyon süresi dikkate alındığında, en yüksek mikroorganizma sayısı 48. saatte saptanmış olup, 24. ve 48. saatler istatistiksel olarak aynı gruplarda yer almıştır. Karpuz ve kavun çekirdeği içeren örnekte mikroorganizma sayısının glikoz ile benzerlik göstermesi probiyotik bakterilerin bu ürünü glikoza yakın fermente edebildiğini ve karbon kaynağı olarak kullanabildiklerini göstermektedir. Probiyotik niteliğini hakkında daha net konuşabilmek için *in vitro* çalışmanın yanında *in vivo* çalışmalar da gerekmektedir.

Çizelge 4.17. Mikroorganizma sayılarına ait substrat çeşitleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksiyonu belirten varyans analizi sonuçları

Substrat çeşitleri	N	Log ₁₀ kob/mL
Kontrol	30	7,35 ^d
Glikoz	30	8,57 ^a
İnulin	30	8,11 ^{bc}
Kavun çekirdeği	30	7,94 ^c
Karpuz çekirdeği	30	8,21 ^b
Bakteri türleri		
<i>Lb. casei</i>	30	8,30 ^b
<i>Lb. acidophilus</i>	30	7,29 ^d
<i>B. lactis</i>	30	7,94 ^c
<i>B. infantis</i>	30	8,54 ^a
<i>B. bifidum</i>	30	8,12 ^c
Fermantasyon süresi (saat)		
0	50	6,87 ^b
24	50	8,57 ^a
48	50	8,67 ^a
ANOVA		
Substrat çeşitleri		**
Bakteri türleri		**
Fermantasyon süresi		**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri		**
Substrat çeşitleri x Fermantasyon süresi		**
Bakteri türleri x Fermantasyon süresi		**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri x Fermantasyon süresi		**

* Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.01); ** p<0.01; * p<0.05.

Kwon ve ark. (2018) şarap üretiminde yan ürün olarak ayrılan üzüm çekirdeği ununun kefirde izole edilen birçok laktik asit bakterisinin gelişmesini stimüle ettiğini saptamışlardır. En yüksek gelişme oranına izole edilen 10 adet bakteri içerisinde *Lb. mesenteroides* DH 1608'in sahip olduğunu belirlemişlerdir. Üzüm çekirdeği ununun

metanol ve suda hazırlanmış polifenol ekstraktı ile karşılaştırıldığında, üzüm çekirdeği ununun *Lb. mesenteroides* DH 1608 gelişmesi üzerine daha fazla etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ekstraktlar toksijenik bakterilerin gelişmesi üzerine etkide bulunmazken, onun *C. perfringens*'in gelişmesini engellediği saptanmıştır.

4.4. Gelişme Oranı

Fermantasyon süresince Azmi ve ark. (2012)'nin önerdiği formüle göre hesaplanan gelişme oranları Çizelge 4.18'de verilmiştir. Gelişme oranları fermantasyonun üç farklı zamanında yapılan mikrobiyolojik ekim sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Çizelge 4.18'de de görüldüğü gibi *B. lactis*' in glikoz içeren besi oramı haricinde tüm besi ortamlarında artış gösterdiği saptanmıştır. Fermantasyonun 24. ve 48. saatleri arasında ise stabil olmayan artış ve azalışlar saptanmıştır. Fermantasyon başlangıcı ile 48. saati arasında ise *Lb. acidophilus* ve *B. infantis*'in negatif kontrolü harici tüm ortamlarda gelişme oranında artış belirlenmiştir. 0 ve 48. saatler arasında glikoz içeren besi ortamlarında mikroorganizma sayısında diğer substratlara göre daha fazla artış olduğu saptanmıştır. 0 ile 48. saatler arasında substratlar arasında mikroorganizma sayısında artış en yüksek karpuz çekirdeği içeren örnekte belirlenmiştir. Gelişme oranlarındaki artış dikkate alındığında araştırmada kullanılan test bakterilerinin kavun ve karpuz çekirdeğini glikoz ve inuline benzer metabolize edebildiklerini ve karbon kaynağı olarak kullanabildikleri saptanmıştır.

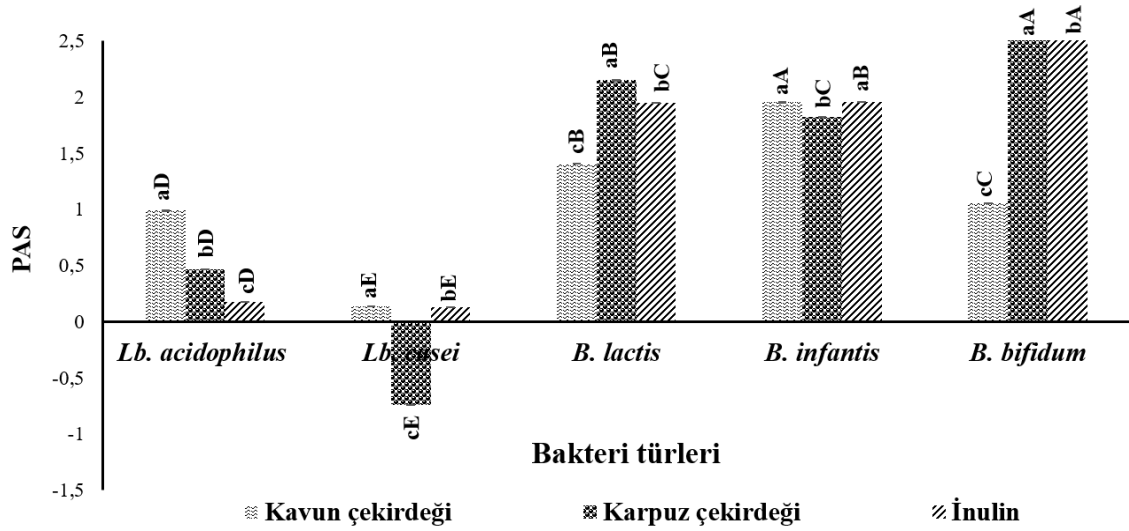
Çizelge 4.18. 48 saatlik fermentasyon süresince farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarındaki bakteri türlerine ait gelişme oranları

Bakteri türleri	Substrat çeşitleri	0-24	24-48	0-48
<i>Lb. casei</i>	Negatif	0,35	-0,02	0,31
	Glikoz	0,45	0,06	0,53
	İnulin	0,34	0,00	0,33
	Kavun çekirdeği	0,36	-0,06	0,29
	Karpuz çekirdeği	0,37	-0,03	0,32
<i>Lb. acidophilus</i>	Negatif	0,15	-0,42	-0,33
	Glikoz	0,23	-0,06	0,15
	İnulin	0,37	-0,09	0,24
	Kavun çekirdeği	0,35	0,03	0,39
	Karpuz çekirdeği	0,44	0,01	0,46
<i>B. lactis</i>	Negatif	0,43	0,25	0,78
	Glikoz	-0,14	0,17	0,01
	İnulin	0,62	0,09	0,76
	Kavun çekirdeği	0,31	0,17	0,53
	Karpuz çekirdeği	0,17	0,38	0,62
<i>B. infantis</i>	Negatif	0,09	-0,11	-0,03
	Glikoz	0,13	0,02	0,15
	İnulin	0,12	0,15	0,29
	Kavun çekirdeği	0,27	-0,13	0,10
	Karpuz çekirdeği	0,37	-0,12	0,21
<i>B. bifidum</i>	Negatif	0,16	-0,07	0,09
	Glikoz	0,19	0,03	0,23
	İnulin	0,14	-0,04	0,09
	Kavun çekirdeği	0,11	0,00	0,11
	Karpuz çekirdeği	0,18	0,17	0,38
Gelişme oranı: $\frac{\text{Log}_{10} \text{ kob/mL son fermentasyon zamanı} - \text{Log}_{10} \text{ kob/mL bir önceki fermentasyon zamanı}}{\text{Log}_{10} \text{ kob/mL bir önceki fermentasyon zamanı}}$				

4.5. Prebiyotik Aktivite Sayısı (PAS)

Bir gıda bileşeninin prebiyotik olarak sınıflandırılabilmesi için bağırsak mikrobiyotasındaki bileşimi ve/veya aktiviteyi uyarak seçici olarak değiştirebilmeli ve sağlık üzerine yararlı etkisi kanıtlanmış olmalıdır. Prebiyotik etkiyi tanımlayan prebiyotik aktivite sayısının hesaplanması ile *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri gibi bağırsak sistemindeki yararlı bakterilerin ve koliform grubu gibi zararlı mikroorganizmaların hücre yoğunluğu/bakteri sayısı değerlerindeki değişikliklerin karşılaştırılması gerçekleştirilmektedir. Prebiyotik aktivite sayısı arttıkça, daha yüksek oranda probiyotik mikroorganizma gelişmesi daha düşük oranda patojen mikroorganizmaların gelişmesinin olduğu belirtilmektedir. Prebiyotik

mikroorganizmanın glikoza kıyasla prebiyotik substratı daha yüksek oranda ve seçici olarak kullandığı, patojen mikroorganizmanın ise glikoza kıyasla sınırlı olarak prebiyotik substratı kullandığı ifade edilmektedir (Huebner ve ark. 2007, Roberfroid 2007, Maischberger ve ark. 2009, Usta ve ark. 2015).



^a; Küçük harfler bakterinin gelişme gösterdiği substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler substratın bakteri türleri arasındaki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.16. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri için prebiyotik aktivite sayısı (PAS)

Çalışmada kullanılan 6 bakteri türüne ait prebiyotik aktivite sayısı değerleri Şekil 4.16.'de verilmiştir. PAS, *Lb. acidophilus* *Lb. casei* ve *B. infantis* için kavun çekirdeği içeren besi ortamında, *B. lactis* ve *B. bifidum* için ise karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri türleri açısından PAS değerleri karşılaştırıldığında ise karpuz çekirdeği ve inulin içeren substratlar için en yüksek değere *B. bifidum*'un sahip olduğu belirlenmiştir.

Prebiyotik aktivite sayılarına ait substrat çeşitleri ile bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları Çizelge 4.19.'de verilmiştir. Substrat çeşitleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.01$), bakteri türleri ile substrat çeşitleri x bakteri türleri arasındaki interaksyonun istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.01$). Mikroorganizma türlerine göre en yüksek PAS değeri *B. bifidum*'a ait olup, bu bakteriyi *B. infantis*, *B. lactis*, *Lb. acidophilus* ve *Lb. casei* izlemiştir.

Çizelge 4.19. Prebiyotik aktivite sayılarına ait substrat türleri ile bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları

Substrat çeşitleri	N	PAS
İnulin	10	1,56 ^a
Kavun çekirdeği	10	1,11 ^a
Karpuz çekirdeği	10	1,54 ^a
Bakteri türleri		
<i>Lb. casei</i>	6	-0,16 ^b
<i>Lb. acidophilus</i>	6	0,54 ^b
<i>B. lactis</i>	6	1,84 ^a
<i>B. infantis</i>	6	1,91 ^a
<i>B. bifidum</i>	6	2,88 ^a
ANOVA		
Substrat çeşitleri		önemsiz
Bakteri türleri		**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri		**

* Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.01); ** p<0.01; * p<0.05

Díaz-Vela ve ark. (2013), *P. pentosaceus* UAM 22 suşu için dikenli armut kabuğu ununun substrat olarak kullanıldığı besi ortamında PAS değerini 0.33, ananas kabuğu unu içeren ortamda ise 0.32 olarak saptamışlardır.

Moongngamn ve ark. (2011), soğan ve sarımsak ekstratları içeren besi ortamında *Lb. acidophilus* için prebiyotik skorun 2'ye yakın olduğunu belirlemişlerdir.

Pallavi ve ark. (2017), şeker elması çekirdeklerinin prebiyotik etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, *Lb. acidophilus* ATCC4356 için PAS değerini çekirdeklerin çözünür diyet lifi fraksiyonu için 1.91, çözünmez diyet lifi fraksiyonu için 0.63 ve düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat içeriği için 0.19 olarak belirlemişlerdir.

Zhang ve ark. (2018), narenciye kabuğu pektininden elde edilen pektin oligosakkaritlerinin prebiyotik potansiyelini inceledikleri çalışmalarında, PAS değerlerinin *Lb. paracasei* LPC-37 için 0.17 - 0.38, *B. bifidum* ATCC 29521 için ise 0.09 - 0.91 arasında değiştiğini saptamışlardır.

4.6. Şeker Bileşenleri

Oligosakkaritlerin prebiyotik etkisi aşağıda belirtilen faktörlerden etkilenebilmektedir.

- Monosakkarit kompozisyonu; etkisi kanıtlanmış prebiyotiklerin temel bileşenleri glikoz, galaktoz, ksiloz ve fruktoz'dur.
- Glikosidik bağ; ince bağırsakta hem fermentasyon seçiciliğinin hem de sindirilebilirliğin belirlenmesinde çok önemlidir.
- Moleküler ağırlık; en yaygın prebiyotikler oldukça düşük polimerizasyon derecesine sahiptir (Tymczyszyn ve ark. 2014).

Farklı substratlar içeren besi ortamında fermentasyonun 0. saati ve 48. saatinde belirlenen glikoz, fruktoz, galaktoz, ksiloz ve sukroz değerleri (g/L) Çizelge 4.20.'de verilmiştir.

Glikoz: Kompleks karbohidratların bileşiminde en fazla bulunan monosakkarittir. Örnekler arası glikoz değerinin 0.34 g/L (fermantasyonun 48. saati *B. lactis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamı) - 8.69 g/L (fermantasyonun 0. saati *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

Galaktoz: Doğada ve organizmada en yaygın bulunan heksoz monosakkaritlerden biri de galaktozdur. Örnekler arası galaktoz değerinin 0,16 g/L (fermantasyonun 48. saati *Lb. casei* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) - 21,77 g/L (fermantasyonun 0. saati *Lb. acidophilus* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

Fruktoz: Meyve şekeri olarak da bilinen altı karbonlu monosakkaritlerden biridir. Prebiyotik bileşenler ile yapılan çalışmalarda fruktoz içeriği aynı zamanda inulin (glikoz terminal grubu ile β -(2-1) bağ ile ilişkili fruktoz ünitelerinin bir polimeri) içeriği ile ilişkilendirilmektedir (Herawati ve ark. 2019). Örnekler arası fruktoz değerinin 0,74 g/L (fermantasyonun 0. saati *B. infantis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamı) - 21,19 g/L (fermantasyonun 0. saati *Lb. acidophilus* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

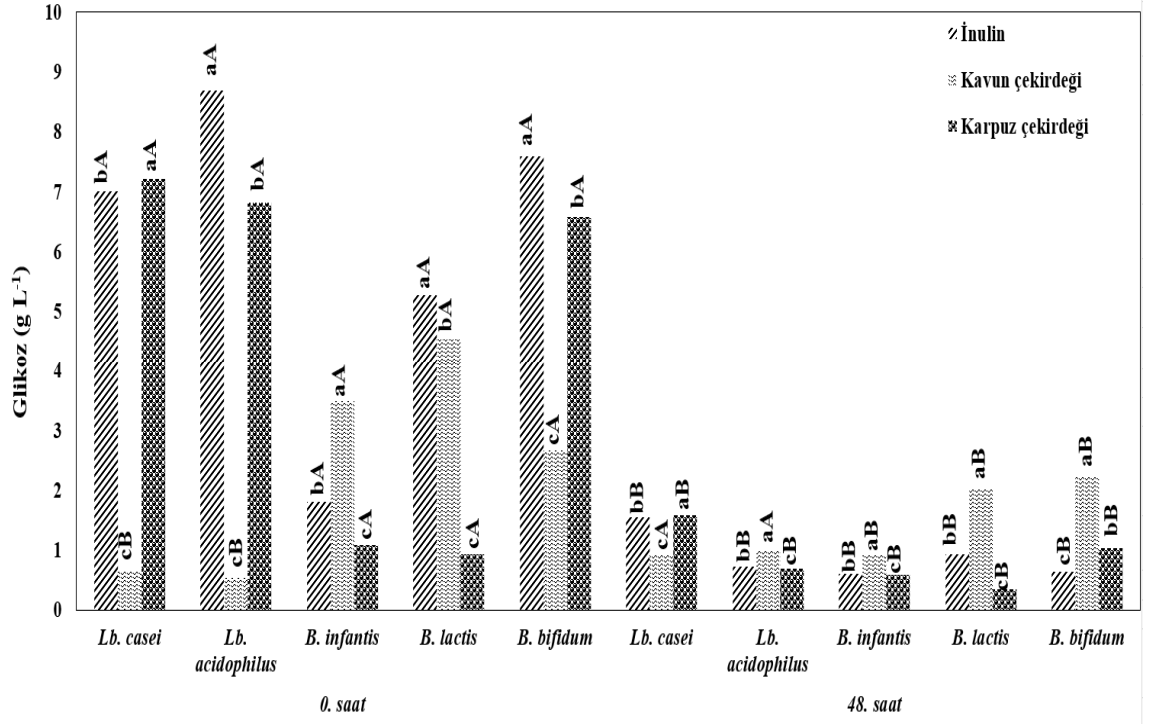
Ksiloz: Ksiloz veya odun şekeri, beş karbon içeren aldozlar anlamına gelen aldopentozların grubunda yer almaktadır. Örnekler arası ksiloz değerinin 0,05 g/L (fermantasyonun 0. saati *B. infantis* ve 48. saat *B. bifidum* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamı) - 3,46 g/L (fermantasyonun 0. saati *B. bifidum* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

Sükroz (Sakkaroz): Bir glikoz molekülü ile bir fruktoz molekülünün Glc(α 1 $\rightarrow$ 2)Fru biçiminde kondensasyonu ile oluşmuş bir disakkarittir. Örnekler arası sükroz değerinin 0,00 g/L (fermantasyonun 48. saati *Lb. casei* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) -

13,42 g/L (fermantasyonun 0. saati *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.20. Probiyotik bakteri türlerine ait farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermentasyonun 0. saati ve 48. saatinde saptanan şeker bileşenleri değerleri (g/L)

Bakteri Türleri	Şeker Bileşenleri	Fermantasyon Süresi	Substrat çeşitleri			En Düşük	En Yüksek	Ortalama
			İnulin	Kavun Çekirdeği	Karpuz Çekirdeği			
<i>Lb. casei</i>	Glikoz	0. saat	7,01	0,65	7,22	0,64	7,22	4,96
		48. saat	1,55	0,94	1,59	0,94	1,55	1,36
	Galaktoz	0. saat	0,98	17,93	21,25	0,98	21,25	13,39
		48. saat	0,16	1,28	1,21	0,16	1,28	0,89
	Fruktoz	0. saat	7,51	1,51	1,02	1,02	7,51	3,35
		48. saat	1,42	2,99	2,11	1,42	2,99	2,17
	Sükroz	0. saat	8,05	4,19	6,99	4,19	8,05	6,41
		48. saat	0,00	2,86	4,37	0,00	4,37	2,39
	Ksiloz	0. saat	0,24	1,39	2,02	0,24	2,02	1,22
		48. saat	0,33	1,16	0,84	0,33	1,16	0,77
	<i>Lb. acidophilus</i>	Glikoz	0. saat	8,70	0,58	0,58	8,69	5,36
			48. saat	0,72	0,99	0,69	0,99	0,80
		Galaktoz	0. saat	7,88	21,78	7,38	21,78	12,35
			48. saat	0,92	0,56	0,56	1,16	0,88
		Fruktoz	0. saat	6,66	0,81	21,19	0,81	21,19
			48. saat	1,59	3,17	1,50	3,17	1,75
		Sükroz	0. saat	13,43	4,22	5,26	4,22	13,43
			48. saat	4,80	4,50	0,66	0,66	4,80
		Ksiloz	0. saat	3,29	1,15	2,30	1,15	3,29
			48. saat	1,29	0,16	1,47	0,16	1,47
<i>B. lactis</i>	Glikoz	0. saat	5,27	4,53	0,94	0,94	5,27	3,58
		48. saat	0,93	2,02	0,34	0,34	2,02	1,10
	Galaktoz	0. saat	1,92	2,55	1,52	1,52	2,55	1,99
		48. saat	5,54	6,21	6,41	5,54	6,41	6,05
	Fruktoz	0. saat	7,04	1,00	1,88	1,00	7,04	3,31
		48. saat	2,12	1,52	3,20	1,52	3,20	2,28
	Sükroz	0. saat	8,08	4,66	4,46	4,46	8,08	5,74
		48. saat	8,52	4,35	4,47	4,35	8,52	5,78
	Ksiloz	0. saat	0,75	2,33	1,78	0,75	2,33	1,62
		48. saat	1,59	0,13	1,31	0,13	1,59	1,01
<i>B. infantis</i>	Glikoz	0. saat	1,80	3,50	1,08	1,08	3,50	2,13
		48. saat	0,61	0,92	0,58	0,58	0,92	0,71
	Galaktoz	0. saat	0,97	3,49	1,18	0,97	3,49	1,88
		48. saat	1,34	2,93	1,80	1,34	2,93	2,02
	Fruktoz	0. saat	3,89	1,37	0,75	0,75	3,89	2,00
		48. saat	2,88	1,22	3,89	1,22	3,89	2,66
	Sükroz	0. saat	7,12	4,28	2,87	2,87	7,12	4,76
		48. saat	8,37	5,54	4,11	4,11	8,37	6,01
	Ksiloz	0. saat	2,21	1,44	0,05	0,05	2,21	1,24
		48. saat	1,10	1,07	0,61	0,61	1,10	0,93
<i>B. bifidum</i>	Glikoz	0. saat	7,59	2,67	6,58	2,67	7,59	5,61
		48. saat	0,63	2,24	1,04	0,63	2,24	1,30
	Galaktoz	0. saat	2,57	4,02	2,53	2,53	4,02	3,04
		48. saat	1,67	8,74	3,60	1,67	8,74	4,67
	Fruktoz	0. saat	5,56	0,81	3,28	0,81	5,56	3,21
		48. saat	2,13	2,32	0,90	0,90	2,32	1,78
	Sükroz	0. saat	12,95	6,65	4,18	4,18	12,95	7,93
		48. saat	6,12	0,33	3,53	0,33	6,12	3,33
	Ksiloz	0. saat	3,46	0,13	0,87	0,13	3,46	1,49
		48. saat	0,20	1,48	0,05	0,05	1,48	0,58

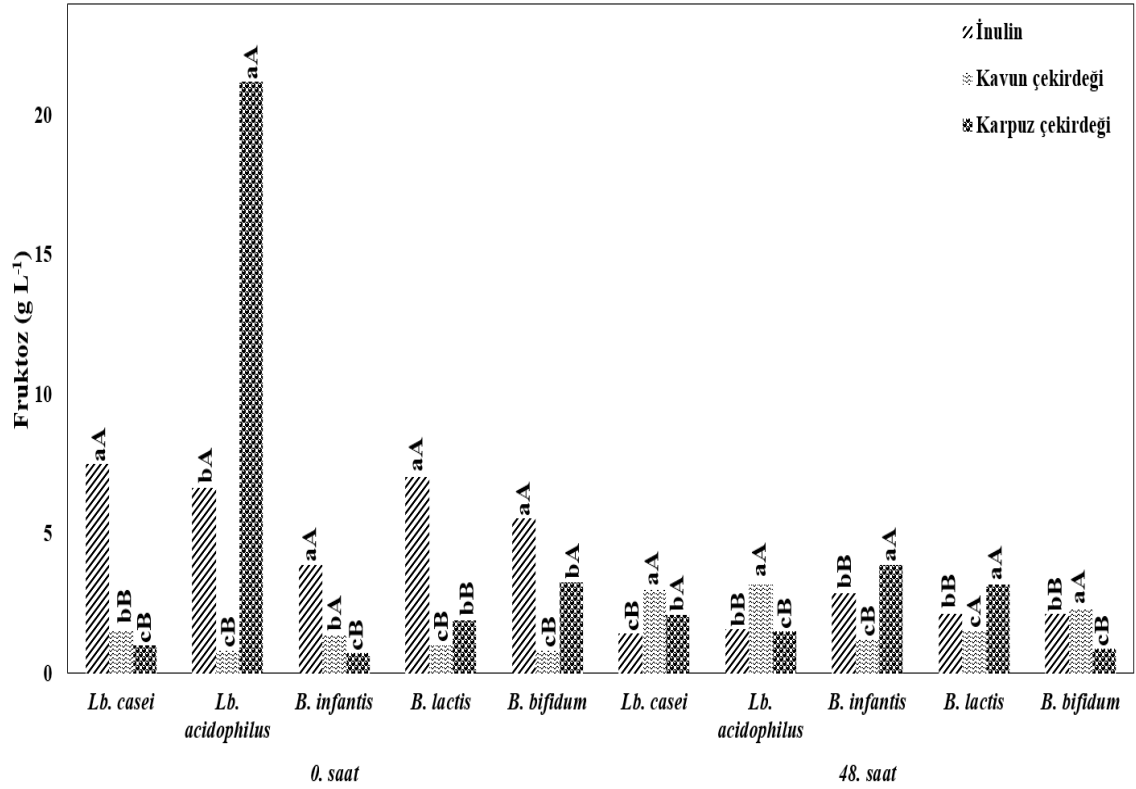


^a; Küçük harfler bir bakterideki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler her bakteriye ait fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.17. Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen glikoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen glikoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.17.'de verilmiştir. Glikoz değeri fermentasyonun 0. saatinde *Lb. acidophilus* ile inoküle inülin içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde ise glikoz değeri *B. bifidum* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyon süresince glikoz değerlerinin *Lb. casei* ve *Lb. acidophilus* ile inoküle kavun çekirdeği içeren ortam harici tüm besi ortamlarında azaldığı tespit edilmiştir.

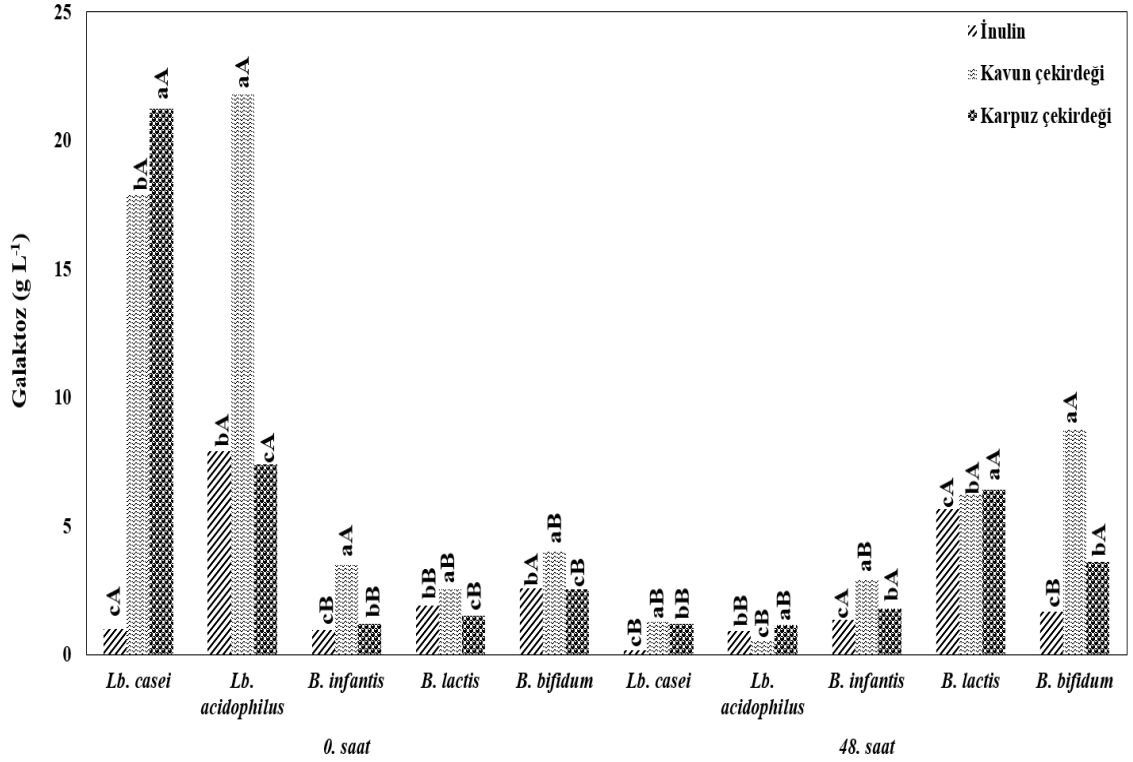


^a; Küçük harfler bir bakterideki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler her bakteriye ait fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.18. Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen fruktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen fruktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.18.'de verilmiştir. Fruktoz değeri fermentasyonun 0. saatinde *Lb. acidophilus* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Diğer bakteri türleri içerisinde ise inulin içeren besi ortamında fruktoz değerinin diğer substratlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fermentasyonun 48. saatinde ise fruktoz değeri *B. infantis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyon süresince *Lb. casei* ve *B. lactis* ile inoküle karpuz çekirdeği ve kavun çekirdeği içeren besi ortamında, *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında, *B. infantis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında fruktoz değerlerinin artış gösterdiği belirlenmiştir.

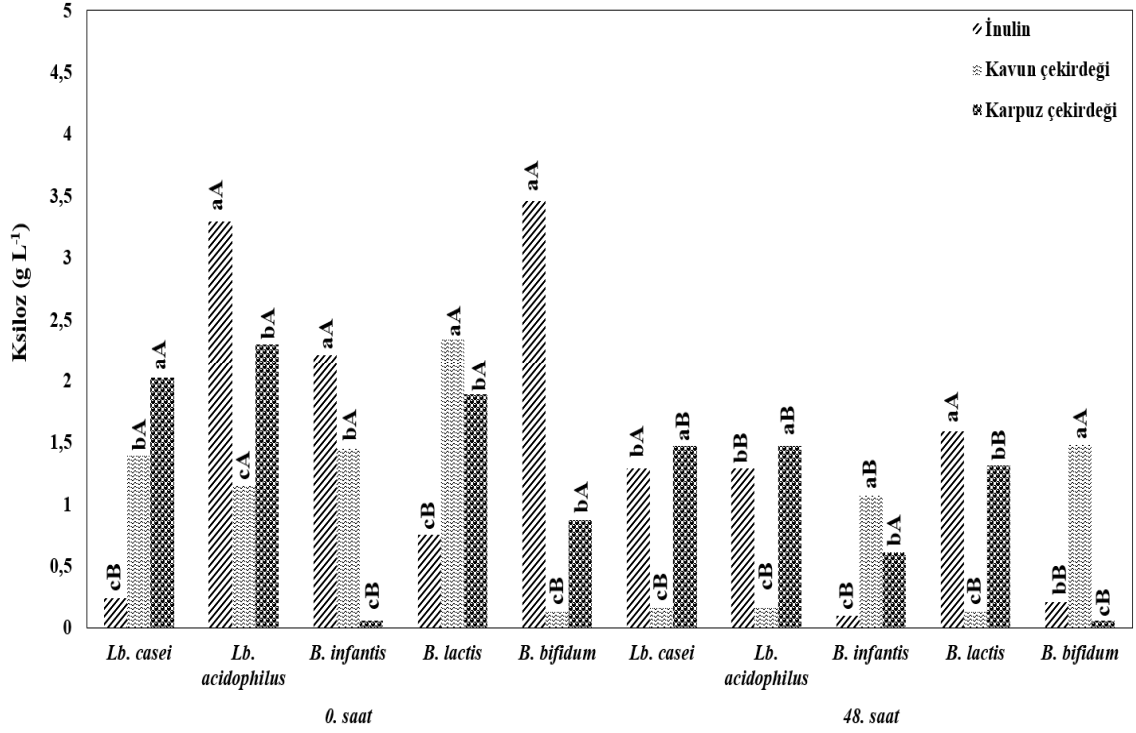


^a; Küçük harfler bir bakterideki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler her bakteriye ait fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.19. Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen galaktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen galaktoz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.19.'de verilmiştir. Galaktoz değeri fermentasyonun 0. saatinde *Lb. acidophilus* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde ise galaktoz değeri *B. bifidum* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyon süresince *Lb. casei* ve *Lb. acidophilus* ile inoküle her üç substratta, *B. infantis* ile inoküle kavun çekirdeği içeren ortamda ve *B. bifidum* ile inulin içeren ortamda galaktoz değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

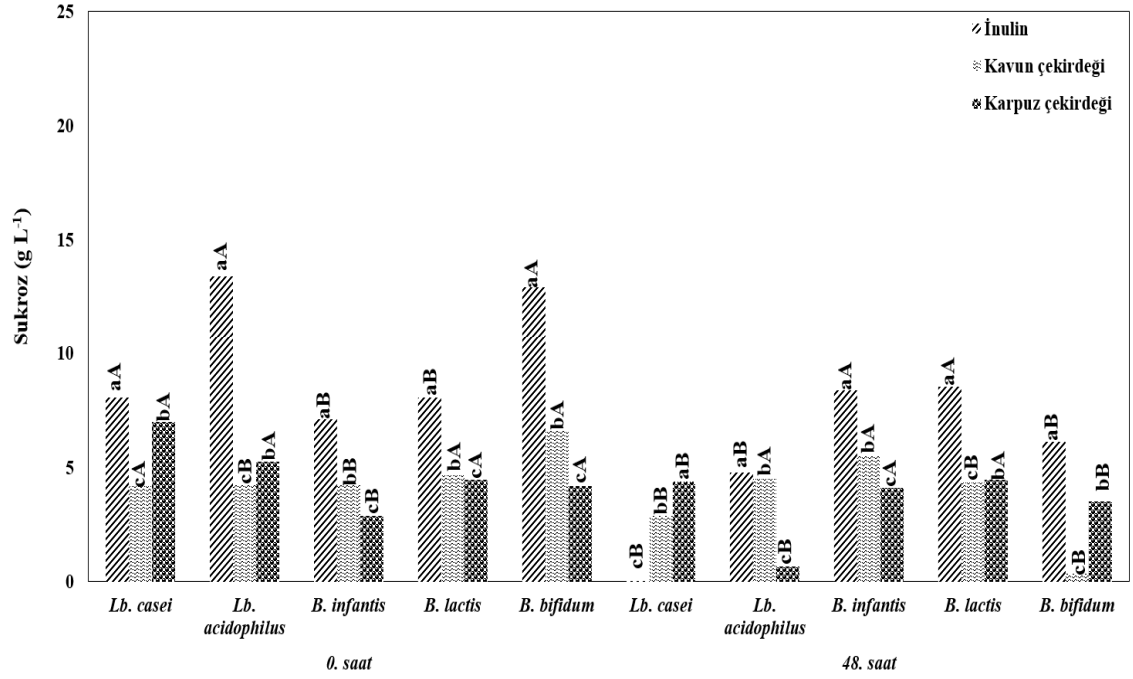


^a; Küçük harfler bir bakterideki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler her bakteriye ait fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.20. Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen ksiloz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen ksiloz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.20.'de verilmiştir. Ksiloz değeri fermentasyonun 0. saatinde *B. bifidum* ile inoküle inulin içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde ise ksiloz değeri *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyon süresince *Lb. casei* ve *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında, *B. infantis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında ve *B. bifidum* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında ksiloz değerlerinin artış gösterdiği saptanmıştır.



^a; Küçük harfler bir bakterideki substratlar arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

^A; Büyük harfler her bakteriye ait fermentasyon süresindeki istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p < 0.01$)

Şekil 4.21. Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen sukroz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri

Fermentasyonun 0. ve 48. saatinde belirlenen sukroz değerleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Şekil 4.21.'de verilmiştir. Sukroz değeri fermentasyonun 0. saatinde *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde ise sukroz değeri *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında en yüksek olarak saptanmıştır. Fermentasyon süresince *Lb. acidophilus* ile inoküle kavun çekirdeği içeren ortam, *B. infantis* ile inoküle her üç substratda, *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında sukroz değerlerinin artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Şeker bileşenlerine ait substrat çeşitlilikleri, bakteri türleri, fermentasyon süreleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları Çizelge 4.21.'de verilmiştir. Varyasyon kaynakları ve aralarındaki interaksyonlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Glikoz, früktoz, sükroz ve ksiloz değerleri substrat türleri içerisinde en yüksek inulin içeren besi ortamında bulunmuştur. Galaktoz değeri en yüksek kavun çekirdeği içeren besi ortamında belirlenmiştir. *Lb. acidophilus* türünün geliştiği ortamlarda früktoz ve ksiloz miktarı en yüksek miktarda belirlenmiştir. Sükroz değeri *B.*

lactis türünün geliştiği ortamlarda daha yüksek miktarda belirlenmiştir. Glikoz değeri *B. bifidum* türünün geliştiği ortamlarda en yüksek olarak saptanmıştır. Galaktoz değeri ise *Lb. casei* türünün geliştiği ortamlarda en yüksek olarak saptanmıştır. Tüm şeker bileşenlerinin fermentasyon süresince miktarlarının azaldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. Şeker bileşenlerine ait substrat türleri, bakteri türleri, fermentasyon süreleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları

Substrat çeşitleri	N	Glikoz	Fruktoz	Galaktoz	Ksiloz	Sükroz
İnulin	20	3,48 ^a	4,08 ^a	2,41 ^c	1,44 ^a	7,75 ^a
Kavun çekirdeği	20	1,90 ^c	1,67 ^c	6,95 ^a	0,94 ^c	4,16 ^b
Karpuz çekirdeği	20	2,69 ^b	3,97 ^b	4,80 ^b	1,20 ^b	4,09 ^c
Bakteri türleri						
<i>Lb. acidophilus</i>	12	3,08 ^c	5,82 ^a	6,61 ^b	1,61 ^a	5,48 ^c
<i>Lb. casei</i>	12	3,16 ^b	2,76 ^c	7,14 ^a	1,09 ^c	4,41 ^e
<i>B. lactis</i>	12	2,34 ^d	2,79 ^b	4,04 ^c	1,33 ^b	5,76 ^a
<i>B. infantis</i>	12	1,42 ^e	2,33 ^e	1,95 ^e	0,91 ^e	5,38 ^d
<i>B. bifidum</i>	12	3,46 ^a	2,50 ^d	3,86 ^d	1,03 ^d	5,63 ^b
Fermentasyon süresi (saat)						
0	30	4,33 ^a	4,29 ^a	6,53 ^a	6,49 ^a	1,57 ^a
48	30	1,05 ^b	2,20 ^b	2,91 ^b	4,17 ^b	0,82 ^b
ANOVA						
Substrat çeşitleri		**	**	**	**	**
Bakteri türleri		**	**	**	**	**
Fermentasyon süresi		**	**	**	**	**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri		**	**	**	**	**
Substrat çeşitleri x Fermentasyon süresi		**	**	**	**	**
Bakteri türü x Fermentasyon süresi		**	**	**	**	**
Substrat çeşitleri x Bakteri türleri x Fermentasyon süresi		**	**	**	**	**

* Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.01); ** p<0.01; * p<0.05

Mandalari ve ark. (2007) begamot kabuğundan elde edilen pektik oligosakkaritlerinin prebiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, oligosakkaritlerin yüksek oranda galakturonik asit ve glikoz, daha düşük miktarlarda ramnoz, fruktoz, arabinoz, ksiloz, mannoz ve galaktoz içerdiğini saptamışlardır.

Pallavi ve ark. (2017), şeker elması çekirdeklerinin prebiyotik etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, çekirdeklerin 9.6 g/g düşük molekül ağırlıklı karbonhidrat bileşimine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu düşük molekül ağırlıklı karbonhidratların şeker bileşenleri analizi sonucu, 0.2 g/g'dan daha düşük miktarda F2, F3, F4, F5, F6 ve F7 fruktoz oligomerleri, 0.2 g/g'dan daha düşük miktarda GF2, GF3, GF4, GF5 ve GF6 glikoz-fruktoz oligomerlerini, 0.1 g/g'dan daha düşük miktarlarda galaktoz, glikoz, laktoz, maltoz, 0.69 g/g fruktoz ve 0.95 g/g sukroz içerdiğini saptamışlardır.

Zhang ve ark. (2018), narenciye kabuğu pektininden elde edilen pektin oligosakkaritlerinin prebiyotik potansiyelini inceledikleri çalışmalarında, pektin oligosakkaritlerinin % 11.49-89.93 mol oranında galakturonik asit, % 0.88-6.41 mol oranında ramnoz, % 2.03-8.45 mol oranında glikoz, % 5.78-72.22 mol oranında galaktoz ve % 0.00-1.42 oranında ksiloz içerdiğini saptamışlardır.

Herawati ve ark. (2019), tarçın sarmaşığı yumrularının [Gembolo Tuber (*Dioscorea bulbifera*)] prebiyotik potansiyelini ve oligosakkarit profilini inceledikleri çalışmalarında, oligosakkarit profilinin % 0.76 inulin, % 0.07 raffinöz, % 0.09 laktuloz, % 0.22 galaktoz, % 2.53 glikoz ve % 2.98 fruktozdan oluştuğunu saptamışlardır.

Yang ve ark. (2020), *Ganoderma lucidum* sporlarından elde polisakkaritlerden oligosakkaritleri ekstrakte ederek prebiyotik aktivitelerini incelemişlerdir. Farklı yöntemler kullanarak elde ettikleri oligosakkaritlerin arabinoz, mannoz, glikoz ve galaktoz içerdiklerini belirlemişlerdir.

4.7. Laktik asit ve Kısa Zincirli Yağ Asitleri

1780 yılında Carl Wilhelm Scheele tarafından keşfedilen ve 1881 yılında ekşimiş süttten elde edilmesi nedeni ile süt asidi olarak da adlandırılan laktik asit, gastrointestinal sistemde *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Enterococci*, *Streptococci* ve *Eubacterium* tarafından prebiyotiklerin fermentasyonu sonucu üretilen önemli bir organik asittir. Homofermentatif laktik asit bakterileri tarafından karbonhidratların pirüvik aside parçalanması sonucu pirüvik asitten laktik asit oluşumu gerçekleşirken, heterofermentatif bakteriler (*Bifidobacterium* türleri gibi) tarafından laktik asit oluşumu ve glikozdan laktik asit ile birlikte diğer asit ve alkollerin üretimi şeklinde gerçekleşmektedir (McSweeney 2004, Maischberger ve ark. 2009, Usta-Görgün ve Yılmaz-Ersan 2019).

Prebiyotik fermentasyonu sonucunda a) faydalı mikrobiyaya artışı, b) patojenik mikrobiyaya popülasyonunun azalması, c) pH düşmesi ve d) kısa zincirli yağ asitleri (asetik, bütirik ve propiyonik asit) oluşumu gerçekleşmektedir. Kısa zincirli yağ asitleri, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından “6 karbon atomundan daha az alifatik kuyruk içeren karboksilik asitler” olarak tanımlanmaktadır. Asetik, propiyonik ve bütirik asitler, ağırlıklı olarak sindirilemeyen diyet karbonhidratlarının bağırsak mikrobiyal fermentasyonunun bir sonucu olarak üretilen başlıca son ürünlerdir. KZYA'lar kalsiyum, magnezyum ve demir gibi minerallerin emilimini teşvik etmek, kolesterol sentezini inhibe etmek, metabolik sendromun, bağırsak bozukluklarının ve belirli kanser türlerinin önlenmesini / tedavisini desteklemek gibi sağlığı teşvik edici özelliklere sahiptirler. Mikroorganizmaların türü ve enzimatik özellikleri ile substratların kimyasal yapısı ve konsantrasyonu gibi faktörler *in vitro/in vivo* ortamlardaki üretilen KZYA miktarını ve türünü etkilemektedir. Ayrıca *in vivo* çalışmalarda canlının kolon mikrobiyotası ve bağırsak geçiş süresi de üretimi etkilemektedir (Morrison ve Preston 2016, Markowiak ve Śliżewska 2017, McNabney ve Henagan 2017, Usta-Görgün ve Yılmaz-Ersan 2019).

Asetik Asit: Homofermentatif *Lactobacillus* türlerinin fermentasyonu sonucu üretilen en önemli ürün laktik asit iken asetik asit ve diğer kısa zincirli yağ asitleri de önemli miktarda üretilmektedir. Heterofermentatif *Bifidobacterium* türlerinin fermentasyonu süresince glikozdan laktik asit ve asetik asit oluşmaktadır. Kuvvetli bir asit olan asetik asit bağırsak

pH'sını düşürmekte, bağırsak bütünlüğünün korunması ve immun sistemin düzenlenmesini sağlamaktadır. Lipogenez ve kolesterol sentezi için bir öncü olan asetik asit, anti-enflamatuvar tepkileri uyarma ve merkezi sinir sistemi ile etkileşimi nedeniyle iştahı azaltmaktadır. Asetik asit, kas dokusunda enerjik substrat olarak kullanılabilmekte, enflamasyonu kontrol etmekte ve patojen istilasını önlemektedir. Bağırsakta prebiyotik fermentasyonu sonucu üretilen asetik asit konsantrasyonu, tür ve substrat çeşidine bağlı olarak değişmektedir (Nazzaro ve ark. 2012, Belorkar ve Gupta 2016).

Propiyonik Asit: Propiyonik asit ilk kez 1844 yılında Johann Gottlieb tarafından şekerlerin indirgenme ürünü olarak tanımlanmış olup kimyasal yapısı $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ şeklindedir. Kolon mikrobiyotasındaki bakteri enzimleri ile hidrolize edilen prebiyotiklerin fermentasyonu sonucu son ürün olarak üretilen propiyonik asit, hepatik yağ asidi sentezini inhibe ederek serum LDL düzeyini düşürmektedir. Bazı kolon bakterileri tarafından üretilen propiyonik asit vücudun birçok yerine taşınabilmekte ve karaciğer hücrelerinde kullanılabilir (Nguyen ve ark. 2007, Macfabe ve ark. 2020).

Bütirik Asit: Bağırsaklarda gerçekleşen anaerobik prebiyotik fermentasyonunun bir ürünü olan bütirik asit, memeli hayvanlardan elde edilen sütlerin bileşiminde de doğal olarak bulunmaktadır. Orta kuvvette bir asit olan bütirik asit bağırsak epitel hücrelerinin enerji kaynağı olup kolonda epitel hücrelerin çoğalmasına ve farklılaşmasına etki etmektedir. Crohn hastalığı ve kolorektal kanser gibi pek çok bağırsak hastalığının tedavisinde olumlu etkilere sahip olduğu, oksidatif stresi azaltabildiği, bağırsak bariyer fonksiyonunu ve kolon sağlığını iyileştirebildiği birçok çalışmada bildirilmektedir (Wong ve ark. 2006, Fung ve ark. 2012, Immerseel ve ark. 2015, Pessione ve Cirrincione 2016).

Farklı substratlar içeren besi ortamında çalışmada kullanılan probiyotik bakteriler tarafından fermentasyon sonucu oluşan laktik asit ve KZYA değerleri (ppm) Çizelge 4.22. 'de verilmiştir. Örnekler arası laktik asidinin değerinin 21,877 ppm (*B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) - 1594,280 ppm (*Lb. casei* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır. Örnekler arası asetik asitinin değerlerinin 0,020 ppm (*B. bifidum* ile inoküle karbonhidrat içermeyen besi ortamı) - 89,722 ppm (*Lb. acidophilus* ile inoküle glikoz içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır. Propiyonik asitinin değerlerinin 0,110 ppm (*B. bifidum* ile inoküle

karbonhidrat içermeyen besi ortamı) - 4,778 ppm (*Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır. Bütirik asitinin değerlerinin 0,01 ppm (*B. infantis* ile inoküle karbonhidrat içermeyen besi ortamı) - 1,303 ppm (*Lb. acidophilus* ile inoküle glikoz içeren besi ortamı) arasında değiştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.22. Farklı bakteri türlerine ait farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermentasyon sonunda saptanan laktik asit ve KZYA değerleri (ppm)

Bakteri Türleri	Substrat Çeşitleri	Laktik Asit	Asetik Asit	Propiyonik Asit	Bütirik Asit	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
<i>Lb. casei</i>	Kontrol	280,441	0,834	0,507	0,656	0,507	280,441	70,609
	Glikoz	35,628	28,817	0,324	0,699	0,324	35,628	16,367
	İnulin	423,289	0,611	1,427	0,870	0,611	423,289	106,549
	Kavun çekirdeği	384,294	0,391	0,613	0,530	0,391	384,294	96,457
	Karpuz çekirdeği	1594,280	0,107	0,128	0,274	0,107	1594,280	398,697
<i>Lb. acidophilus</i>	Kontrol	168,004	0,462	0,295	0,771	0,295	168,004	42,383
	Glikoz	540,129	89,722	3,043	1,303	1,303	540,129	158,549
	İnulin	812,645	0,160	4,778	0,172	0,160	812,645	204,438
	Kavun çekirdeği	105,598	0,043	0,517	0,387	0,043	105,598	26,636
	Karpuz çekirdeği	616,153	0,083	0,571	0,203	0,083	616,153	154,252
<i>B. lactis</i>	Kontrol	156,468	1,603	0,683	0,621	0,621	156,468	39,844
	Glikoz	258,418	18,827	0,958	0,554	0,554	258,418	69,689
	İnulin	21,877	0,414	0,831	0,678	0,414	21,877	5,950
	Kavun çekirdeği	248,031	0,483	1,777	0,371	0,371	248,031	62,666
	Karpuz çekirdeği	73,224	0,042	0,352	0,213	0,042	73,224	18,458
<i>B. infantis</i>	Kontrol	565,166	1,234	0,204	0,010	0,010	565,166	141,654
	Glikoz	78,288	0,798	0,975	0,769	0,769	78,288	20,208
	İnulin	1058,130	0,479	0,514	0,550	0,479	1058,13	264,918
	Kavun çekirdeği	393,323	0,206	0,546	0,076	0,206	393,323	98,538
	Karpuz çekirdeği	34,167	0,022	1,401	0,222	0,022	34,167	8,953
<i>B. bifidum</i>	Kontrol	694,521	0,020	0,110	0,155	0,020	694,521	173,702
	Glikoz	103,203	0,338	0,814	0,691	0,338	103,203	26,262
	İnulin	566,026	0,165	0,287	0,174	0,165	566,026	141,663
	Kavun çekirdeği	499,931	0,713	0,433	0,327	0,327	499,931	125,351
	Karpuz çekirdeği	304,657	0,09	0,350	0,198	0,09	304,657	76,322

Farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermentasyon sonunda üretilen laktik asit ve KZYA değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları Çizelge 4.23.'de verilmiştir. Uygulanan LSD testi sonuçlarına göre; en yüksek toplam laktik asit değeri *Lb. casei* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında, en düşük *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında saptanmıştır. İstatistiksel olarak laktik içerik değeri ayrı gruplarda yer almışlardır. *Lb. acidophilus* ile inoküle glikoz içeren besi ortamlarının en yüksek asetik asit, bütirik asit ve toplam KZYA değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük asetik asit değeri *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamında saptanmış olup, tüm örneklerin asetik asit değerleri istatistiksel olarak farklı gruplarda yer almışlardır. En yüksek propiyonik asit değeri *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamında, en düşük ise *B. bifidum* ile inoküle karbonhidrat içermeyen besi ortamında (kontrol) saptanmıştır. *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarında saptanan propiyonik asit değerlerinin istatistiksel olarak aynı grupta yer aldıkları belirlenmiştir. En düşük toplam KZYA değeri *Lb. casei* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmış olup, *B. lactis*'le inoküle karpuz çekirdeği ve *B. infantis*'le inoküle inulin ile karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarında belirlenen toplam KZYA değerlerinin istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.23. Farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermentasyon sonunda üretilen laktik asit ve KZYA değerlerine ilişkin LSD testi sonuçları

Bakteri türleri	Substrat çeşitleri	N	Laktik asit	Asetik asit	Propiyonik asit	Bütirik asit	Toplam KZYA
<i>Lb. casei</i>	Kontrol	2	280,440 ^l	0,834 ^f	0,507 ^l	0,656 ^e	1,990 ^{gh}
	Glikoz	2	35,630 ^t	28,817 ^b	0,324 ^o	0,699 ^{cde}	29,840 ^b
	İnulin	2	423,250 ^h	0,611 ¹	1,427 ^c	0,870 ^b	2,900 ^e
	Kavun çekirdeği	2	384,300 ^j	0,391 ^m	0,613 ¹	0,530 ^g	1,530 ^k
	Karpuz çekirdeği	2	1594,260 ^a	0,107 ^q	0,128 ^r	0,274 ^{ij}	0,500 ^o
<i>Lb. acidophilus</i>	Kontrol	2	164,000 ^o	0,462 ^k	0,295 ^p	0,771 ^c	1,520 ^k
	Glikoz	2	540,130 ^g	89,722 ^a	3,043 ^b	1,303 ^a	94,060 ^a
	İnulin	2	812,640 ^c	0,0130 ^t	4,778 ^a	0,172 ^k	4,960 ^d
	Kavun çekirdeği	2	106,010 ^q	0,043 ^s	0,517 ^l	0,387 ^h	0,940 ^l
	Karpuz çekirdeği	2	616,150 ^e	0,083 ^r	0,571 ^j	0,203 ^{jk}	0,850 ^m
<i>B. lactis</i>	Kontrol	2	156,460 ^p	1,603 ^d	0,683 ^h	0,621 ^{ef}	2,900 ^e
	Glikoz	2	258,410 ^m	18,827 ^c	0,958 ^f	0,554 ^{fg}	20,330 ^c
	İnulin	2	21,880 ^u	0,4140 ^l	0,831 ^g	0,678 ^e	1,920 ^{hi}
	Kavun çekirdeği	2	248,030 ⁿ	0,483 ^j	1,177 ^e	0,371 ^h	2,003 ^g
	Karpuz çekirdeği	2	73,220 ^s	0,042 ^s	0,352 ⁿ	0,213 ^{jk}	0,600 ⁿ
<i>B. infantis</i>	Kontrol	2	565,160 ^f	1,234 ^e	0,204 ^q	0,010 ^m	1,440 ^k
	Glikoz	2	78,280 ^r	0,798 ^g	0,975 ^f	0,769 ^{cd}	2,540 ^f
	İnulin	2	1058,180 ^b	0,479 ^j	0,514 ^l	0,500 ^g	1,490 ^k
	Kavun çekirdeği	2	393,302 ¹	0,203 ^o	0,548 ^k	0,078 ^{lm}	0,820 ^m
	Karpuz çekirdeği	2	34,170 ^t	0,022 ^t	1,401 ^d	0,222 ^{jk}	1,640 ^j
<i>B. bifidum</i>	Kontrol	2	692,760 ^d	0,020 ^t	0,110 ^r	0,150 ^{kl}	0,280 ^p
	Glikoz	2	103,200 ^q	0,338 ⁿ	0,814 ^g	0,691 ^{de}	1,840 ⁱ
	İnulin	2	566,030 ^f	0,163 ^p	0,287 ^p	0,174 ^k	0,620 ⁿ
	Kavun çekirdeği	2	250,010 ⁿ	0,713 ^h	0,433 ^m	0,327 ^{hi}	1,470 ^k
	Karpuz çekirdeği	2	304,660 ^k	0,090 ^r	0,345 ^{no}	0,198 ^{jk}	0,630 ⁿ

*Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.01).

Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerine ait substrat çeşitleri, bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları Çizelge 4.24’da verilmiştir. Tüm varyasyon kaynakları ve aralarındaki interaksyon istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Asetik asit, bütirik asit ve toplam KZYA miktarı en yüksek glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. En yüksek laktik asit ve propiyonik asit miktarı inulin içeren besi ortamında saptanmıştır. Karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarının laktik asit değerleri pozitif kontrol olan glikoz içeren ortama göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. En yüksek laktik asit ve bütirik asit değerlerinin *Lb. casei* suşu tarafından üretildiği saptanmıştır. En yüksek asetik asit, propiyonik asit ve toplam KZYA değerlerinin ise *Lb. acidophilus* suşu tarafından üretildiği belirlenmiştir. KZYA miktarı prebiyotik substratın yapısına ve probiyotik bakteri türüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yapılan analiz sonucunda da hem kullanılan bakteri türlerine hem de farklı substrat türlerine bağlı olarak üretilen KZYA miktarlarının farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.24. Laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerine ait substrat türleri, bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonu belirten varyans analizi sonuçları

Substrat çeşitleri	N	Laktik Asit	Asetik Asit	Propiyonik Asit	Bütirik Asit	Toplam KZYA
Kontrol	10	371,77 ^c	0,83 ^b	0,36 ^e	0,44 ^c	1,63 ^c
Glikoz	10	203,13 ^e	27,70 ^a	1,22 ^b	0,80 ^a	29,73 ^a
İnulin	10	576,40 ^a	0,36 ^d	1,57 ^a	0,48 ^b	2,38 ^b
Kavun çekirdeği	10	276,33 ^d	0,37 ^c	0,66 ^c	0,34 ^d	1,36 ^d
Karpuz çekirdeği	10	524,49 ^b	0,07 ^e	0,56 ^d	0,22 ^e	0,85 ^e
Bakteri türleri						
<i>Lb. casei</i>	10	543,57 ^a	6,15 ^b	0,60 ^d	0,61 ^a	7,36 ^b
<i>Lb. acidophilus</i>	10	447,79 ^b	18,06 ^a	1,84 ^a	0,57 ^b	20,47 ^a
<i>B. lactis</i>	10	151,60 ^e	4,27 ^c	0,80 ^b	0,49 ^c	5,56 ^c
<i>B. infantis</i>	10	425,82 ^c	0,55 ^d	0,73 ^c	0,32 ^d	1,59 ^d
<i>B. bifidum</i>	10	383,33 ^d	0,26 ^e	0,40 ^e	0,31 ^d	0,97 ^e
ANOVA						
Substrat çeşitleri		**	**	**	**	**
Bakteri türleri		**	**	**	**	**
Substrat çeşidi x Bakteri türü		**	**	**	**	**

* Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır; ** $p<0,01$; * $p<0,05$.

Majeed ve ark (2018), yabanmersini çekirdeğinden ekstrakte edilen liflerin prebiyotik potansiyelini probiyotik *Bacillus coagulans* MTCC 5856 suşunu kullanarak incelemişlerdir. 24 saatlik fermentasyon süresince kısa zincirli yağ asidi sonuçlarına göre, asetik asit miktarı yabanmersini çekirdeği lifi bulunan besi ortamında 2.01-8.64 mg/g, FOS içeren ortamda 0.41-1.07 mg/g, MRS-desktroz ortamında 10.21-113.07 mg/g; propiyonik asit miktarı yaban mersini çekirdeği lifi bulunan besi ortamında 11.11-69.07 mg/g, FOS içeren ortamda 3.21-21.61 mg/g, MRS-desktroz ortamında 0.32-1.04 mg/g; bütirik asit miktarı ise yaban mersini çekirdeği lifi bulunan besi ortamında 0.05-0.22 mg/g, FOS içeren ortamda 0.01-0.07 mg/g, MRS-desktroz ortamında 0.005-0.05 mg/g değerleri arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Kolonik fermentasyonun son ürünleri olan KZYA'ların, sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir. Prebiyotik fermentasyonunda da önemli metabolitler olduklarından, bu asitlerin oluşumu ile ilgili çalışmalar daha çok *in vivo* çalışmalar olup, bağırsakta oluşan miktarları çalışmalarda yer almaktadır. KYZA üretimi ile *in vitro* ortamda yapılan çalışma sayısı son derece sınırlıdır. Karbonhidrat kaynağı olan ortamda sakkarolitik fermentasyon sonucu oluştuklarına dair bir çok kaynak bulunmasına rağmen, karbonhidrat kaynağı içermeyen ortamda nasıl oluşabildiklerine dair bilimsel bir kanıt rastlanılamamıştır. Yapılan çalışmalarda kullanılan prebiyotik bileşenin kimyasal kompozisyonu, probiyotik bakterinin prebiyotiği fermente etme yolu (LAB'nin kullandığı sitrat metabolizması, *Bifidobacterium* türlerinin kullandığı heksoz metabolizması), fermentasyon sonucu üretilen metabolitlerin çeşidi ve miktarı (asetik asit bütirik aside dönüşebilir), *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda fermentasyon ortamının ekosistemi (sıcaklık, pH, inhibitör/stimülatör bileşenlerin varlığı) gibi faktörlerin laktik asit ve KZYA üretimini etkilediği bildirilmektedir (Sousa ve ark. 2015, Kawakami ve ark. 2016, Usta-Görgün ve Yılmaz-Ersan 2019).

5. SONUÇ

Günümüzde sağlıklı yaşam ve beslenme konusunda bilinçlenme, tüketicilerin besinsel özelliklerinin yanı sıra fizyolojik yararlar da sağlayan katma değerli gıdalara olan talebini arttırmaktadır. Gerek tüketici beklentisi gerekse beslenmenin sağlık üzerine etkisi özellikle de bazı gıdaların tedavi sürecine katkısı üzerine yapılan çalışmalar bu alanda fonksiyonel bileşenleri ön plana çıkartmaktadır. Sağlıklı ve sürdürülebilir bir beslenme politikasında, hızla artan nüfusun ve küresel ısınma ve iklim değişiklikleri gibi kronikleşen çevre sorunlarıyla başa çıkmaya çalışan ülkelerin en çok üzerinde durdukları konu hastalıkların tedavisi değil ortaya çıkışının önlenmesidir. Bu bağlamda bilimin önerdiği yollardan birisi fizyolojik etkilere sahip fonksiyonel bileşenlerin ortaya çıkartılmasının ve tüketiminin arttırılmasıdır. Aynı zamanda Dünyada yaşanan çeşitli ekonomik krizlere, daralmalara rağmen, yapılan küresel bir araştırmada 2020 yılı için gıda ve içecek firmalarının, sağlıklı yaşama yönelik sürdürülebilir ürünler ile piyasalarda var olabileceği belirtilmektedir. Bu çalışmaların sonuçları göstermektedir ki bilinçlenen ve farkındalık kazanan tüketiciler farklı fonksiyonel gıdaların arayışına yönelirken, firmalar da piyasaya sunabilecekleri ürün yelpazelerini genişletmek arayışındadırlar. Almanya, İngiltere, Fransa ve Hollanda gibi Avrupa ülkelerinde en çok tüketilen fonksiyonel ürünler probiyotik mikroorganizmaları ve prebiyotik bileşenleri içeren fonksiyonel süt ürünleri olup, bu ürünleri zenginleştirilmiş kahvaltılık mısır gevreği ve meyve suları izlemektedir. Bu kapsamda ürün geliştirme amacıyla planlanan çalışmalarda, yeni probiyotik suşlar ve bu probiyotik mikorganizmaların gelişmesini teşvik edecek prebiyotik bileşenleri içeren bitkisel kaynaklar dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada Türkiye’de, karpuzun üretim ve tüketim oranı ile ekonomideki önemi değerlendirildiğinde olgunlaşmış meyvesi yenen sebzeler içerisinde domatesten sonra ikinci sırada yer aldığından karpuz çekirdeğinin ve kabakgillerden sürüngen gövdeli kavun çekirdeğinin farklı bir kullanım alanının yaratılması amacıyla prebiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Karpuz ve kavun çekirdeği yağ asitleri, vitamin B, magnezyum ve bakır gibi mineraller açısından zengin, düşük kolesterol içeriğine sahip ürünlerdir. Özellikle vitamin B, antioksidan bileşikler ve yüksek lif içeriği nedeniyle de son yıllarda dikkat çeken fonksiyonel gıda bileşenleri olarak dikkat çekmektedirler.

Karpuz ve kavun çekirdeklerinin besin içeriği nedeni ile kardiyovasküler, diyabet, kronik hastalıklar, kanser riski ve alerji üzerine olumlu etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Fakat prebiyotik özellikleri üzerine yapılan çalışma sayısı çok azdır. Bu çalışma ile *in vitro* ortamda ilk kez karpuz ve kavun çekirdeğinin probiyotik mikroorganizmaların gelişmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. *Lactobacillus* (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*) ve *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis*, *Bifidobacterium bifidum*) türlerinin gelişmesi, karbonhidrat kaynağı olarak kavun çekirdeği, karpuz çekirdeği, glikoz ve inulin içeren MRS ve TPY besiyerlerinde incelenmiştir. Fermantasyonun 0., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde besi ortamlarında hücre yoğunluğu (OD₆₀₀) ve pH analizleri yapılmıştır. Fermantasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde mikrobiyolojik sayım ile fermantasyon başlangıcı ve sonunda laktik asit ve şeker bileşenleri (glikoz, galaktoz, fruktoz, sükroz ve ksiloz) ve fermantasyon sonunda kısa zincirli yağ asidi bileşenleri (asetik, propiyonik, bütirik asit) analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bakteri türlerine ait prebiyotik aktivite sayıları da belirlenmiştir.

Araştırma bulguları doğrultusunda;

- pH ve OD analizlerine ait substrat türleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksiyon $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bakteri türleri arasında en yüksek pH değerine *Lb. casei*'nin sahip olduğu, bu bakteriyi *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. bifidum* ve *B. infantis*'in izlediği saptanmıştır. Bakteri türlerinin OD değerleri incelendiğinde en yüksek OD değerinin *Lb. casei*'ye ait olduğu bu bakteriyi *Lb. acidophilus*, *B. lactis*, *B. infantis* ve *B. bifidum*'un izlediği belirlenmiştir. Fermantasyon süresince ortalama değerler incelendiğinde en yüksek pH değeri negatif kontrol örneğinde saptanırken, en düşük pH değeri glikoz içeren besi ortamında saptanmıştır. pH'nın aksine en yüksek OD değeri glikoz içeren örnekte saptanmış olup, bu örneği inulin, kavun ve karpuz çekirdekleri içeren örnekler izlemiştir. Fermantasyon süreleri incelendiğinde pH değerinin azaldığı ve OD değerlerinin arttığı saptanmıştır.

- Mikrobiyolojik ekim sonucu elde edilen mikroorganizma sayılarına ait substrat türleri, bakteri türleri, fermantasyon süresi ve bunlar arasındaki interaksyonun istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Mikroorganizma türlerine göre, en yüksek mikroorganizma sayısı *B. infantis*'de saptanmış olup, bu mikroorganizmayı, *Lb. casei*, *B. lactis*, *B. bifidum* ve *Lb. acidophilus*'un izlediği belirlenmiştir. Substrat türleri arasında fermantasyon süresince en yüksek mikroorganizma sayısı pozitif kontrol olan glikoz içeren besi ortamında saptanmış olup, bu örneği karpuz çekirdeği, kavun çekirdeği ve inulin içeren örnekler izlemiştir.
- Gelişme oranı incelendiğinde, fermantasyonun 0. ve 48. saatleri arasında glikoz ve karpuz çekirdeği içeren besi ortamlarında mikroorganizma sayısında diğer substratlara göre daha fazla artış olduğu saptanmıştır.
- Prebiyotik aktivite sayılarına ait substrat türleri ile bakteri türleri ve bunlar arasındaki interaksyonun istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Substrat türleri arasında PAS değeri en yüksek karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmış olup, bu örneği inulin ve kavun çekirdeği ilaveli besi ortamları izlemiştir. Mikroorganizma türlerine göre en yüksek PAS değeri *B. bifidum*'a ait olup, bu bakteriyi *B. infantis*, *B. lactis*, *Lb. acidophilus* ve *Lb. casei* izlemiştir.
- Farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermantasyon sonucu oluşan şeker bileşenlerine ait LSD testi sonuçlarına göre bileşenler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek glikoz değeri *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamında, en düşük değer ise *B. lactis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında saptanmıştır. Galaktoz değeri en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle kavun çekirdeği içeren besi ortamında, en düşük ise *Lb. casei* ile inoküle inulin içeren besi ortamında saptanmıştır. Fruktoz bileşeni en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında, en düşük ise *B. infantis* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında belirlenmiştir. Sükroz değeri en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren ortamda, en düşük ise *Lb. casei* ile inoküle inulin içeren besi ortamında saptanmıştır. Ksiloz değeri en yüksek *B. bifidum* ile inoküle inulin içeren besi ortamında en düşük *B. infantis* ve *B. bifidum* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında belirlenmiştir.

- Farklı substrat kaynağı içeren besi ortamlarında fermentasyon sonucu oluşan laktik asit ve KZYA bileşenlerine ait LSD testi sonuçlarına göre bileşenler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek laktik asit değeri *Lb. casei* ile inoküle karpuz çekirdeği içeren besi ortamında, en düşük değer ise *B. lactis* ile inoküle inulin içeren besi ortamında saptanmıştır. Asetik asit değeri en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle glikoz içeren besi ortamında, en düşük ise *B. bifidum* ile inoküle karbonhidrat kaynağı içermeyen besi ortamında saptanmıştır. Propiyonik asit değeri en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle inulin içeren besi ortamında, en düşük ise *B. bifidum* ile inoküle karbonhidrat kaynağı içermeyen besi ortamında belirlenmiştir. Bütirik asit değeri en yüksek *Lb. acidophilus* ile inoküle glikoz içeren ortamda, en düşük ise *B. infantis* ile inoküle karbonhidrat içermeyen besi ortamında saptanmıştır.

Çalışmanın sonuçları, karpuz ve kavun çekirdeği bazlı besi ortamında probiyotik bakterilerin geliştiğini ve bu bakterilerin karpuz ve kavun çekirdeğini substrat olarak kullanabildiğini göstermektedir. Probiyotik türler arasında farklı karbon kaynaklarını fermente etme özellikleri açısından türlere özgü metabolik davranışların olduğu da saptanmıştır. *In vitro* besi ortamında karpuz ve kavun çekirdeğinin potansiyel prebiyotik etkisinin araştırıldığı bu çalışmanın sonuçları, karpuz ve kavun çekirdeği için farklı kullanım olanaklarının geliştirilmesi, bu sayede prebiyotik bileşenler gibi katma değeri yüksek ürünlerin üretilmesi ile ülkemiz ekonomisine katkı sağlayacak niteliktedir. Bununla birlikte, karpuz ve kavun çekirdeğinin kompleks bileşimi nedeni ile hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda probiyotik türlerin gelişimi ve canlılığını devam ettirebilme özelliklerinin tanımlanabilmesi için sistematik yaklaşımlar da araştırılmalıdır. Ayrıca karpuz ve kavun çekirdeğinin prebiyotik etkisini doğrulamak amacı ile sağlıklı ve hasta bireylerde *in vivo* çalışmalarla fizyolojik dinamiklerin de belirlenmesi gerekmektedir. Karpuz ve kavun çekirdeği ile elde edilecek prebiyotik bileşenlerin kimyasal yapıları, polimerizasyon dereceleri ve monomerik birimlerinin bileşimi de saptanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Bello, B., İbrahim, T.A.T., Tam, Y.J., Ariff, A., Mustafa, S. 2019.** Prebiotic efficacy of coconut kernel cake's soluble crude polysaccharides on growth rates and acidifying property of probiotic lactic acid bacteria *in vitro*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1): 1216-1227.
- Achu, M.B., Fokou, E., Kansci, G., Fotso, M. 2013.** Chemical evaluation of protein quality and phenolic compound levels of some *Cucurbitaceae* oil seeds from Cameroon. *African Journal of Biotechnology* 12, 735-743.
- Akan, E., Kınık, Ö. 2015.** Gıda üretimi ve depolanması sırasında probiyotiklerin canlılıklarını etkileyen faktörler. *CBÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2): 155-166.
- Al-Ghazzewi, F.H., Khanna, S., Tester, R.F., Piggott, J. 2007.** "The potential use of hydrolysed konjac glucomannan as a prebiotic". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(9): 1758-1766.
- Al-Sheraji, S.H., Ismail, A., Manap, M.Y., Mustafa, S., Yusof, R.M., Hassan, F.A. 2013.** Prebiotics as functional foods. *Journal of Funtional Foods*, 5(4): 1542-1553.
- Al-Thubiani, A.S., Khan M.S.A. 2017.** The prebiotic properties of date palm (phoenix dactylifera l.) seeds in stimulating probiotic *Lactobacillus*. *Journal of Pure And Applied Microbiology*, 11(4): 6175-1686.
- Altuntaş, Y., Batman, A. 2017.** Mikrobiyota ve metabolik sendrom. 45(3): 286-296.
- Amund, O.D. 2016.** Exploring the relationship between exposure to technological and gastrointestinal stress and probiotic functional properties of lactobacilli and bifidobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 62(9): 715-725.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Arés, I., Martínez, M.A. 2016a.** Prebiotics and probiotics: An assessment of their safety and health benefits: Probiotics, prebiotics, and synbiotics, Ed.: Ross, R., Preedy, V.R., Elsevier Inc., pp: 3-23.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M.R., Arés, I., Martínez, M.A. 2016b.** Probiotics: Safety and toxicity considerations: Nutraceuticals efficacy, safety and toxicity, Ed.: Gupta, R. C., Elsevier Inc., pp: 777-853.
- Anandharaj, M., Rani, R.P., Swain, M.R. 2018.** Production of High-quality probiotics by fermentation: Microbial functional foods and nutraceuticals, Ed.: Gupta, V.K., Treichel, H., Shapaval, V., de Oliveira, L.A., Tuohy, M.G. John Wiley & Sons Ltd., pp: 235-265.
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., Momin, A. 2014.** *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the species and application in food production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9): 1241-1251.

Anonim 2003. Resmi yöntemler AOAC analizi. Uluslararası, 17inci Ed. 2. Revizyon Gaithersburg, ABD, Analitik Topluluklar Birliği.

Anonim 2017a. Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği. Ek-2 Hastalık Riskinin Azaltılmasına, Çocukların Gelişimi ve Sağlığına İlişkin Beyanlar Dışındaki Sağlık Beyanları Listesi. Resmî Gazete Sayı: 29960 (Mükerrer), <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/95841>.

Arıgül, M. 2012. “Sübye’nin kalite özelliklerinin ve raf ömrünün geliştirilmesi üzerine bir çalışma”, *Yüksek Lisans Tezi*, Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale.

Arora, A. K., Piplani, M. L., Kapoor, S. S., Bhatia, B. S., Singh, A. R. K., Verma, P. 2011. A research study of Santorini duct. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8: 1510-1513.

Aryana, K.J., Olson, D.W. 2017. A 100-year review: yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12): 9987-10013.

Aune, D., Chan, D.S.M., Lau, R., Vieira, R., Greenwood, D.C., Kampman, E., Norat, T. 2011. Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ*, 343: 1-20 doi: 10.1136/bmj.d6617.

Ayichew, T., Belete, A., Alebachew, T., Tsehaye, H., Berhanu, H., Minwuyelet, A. 2017. Bacterial probiotics their importances and limitations: A review. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 4(2): 202.

Azmi, A.F.M.N., Mustafa, S., Hashim, D.Md., Manap, Y.A. 2012. Prebiotic activity of polysaccharides extracted from *Gigantochloa Levis* (Buluh beting) shoots. *Molecules*, 17(2): 1635-1651.

Batista, J. S., Sabino, K., Menezes, F.N.D.D., Lins, P.P., Gomes, J.A.S., Silva, L.A. 2017. Models to evaluate the prebiotic potential of foods: Functional food - improve health through adequate food. *Intech Open*, pp: 235-256.

Begum, P.S., Madhavi, G., Rajagopal, S., Viswanath, B., Razak, M.A., Vekataratnamma, V. 2017. Probiotics as functional foods: Potential effects on human health and its impact on neurological diseases. *International Journal of Nutrition Pharmacol Neurol Dis*, 7: 23-33.

Belkaid, Y., Hand T. 2014. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *HHS Public Access*, pp: 121-141.

Bello, B., Mustafa, S., Tan, J.S., İbrahim, T.A.T., Tam, P.J., Ariff, A.B., Manap, M.Y., Abbasiliasi, S. 2018. Evaluation of the effect of soluble polysaccharides of palm kernel cake as a potential prebiotic on the growth of probiotics. *3 Biotech*, pp: 346.

Belorkar, S., Gupta, A.K. 2016. Oligosaccharides: A boon from nature's desk. *AMB Express*, 6(1): 82.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., Gil, A. 2012. Probiotic mechanism of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61: 160-174.

Biavati, B., Mattarelli, P. 2012. The actinobacteria, part A and B. genus I. *Bifidobacterium*: Phylum XXVI. *Actinobacteria* phyl. Nov. Ed.: Goodfellow, M., Kampfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I., Ludwig, W., Whitman, W. B., Springer, New York, pp: 171-206.

Bindels, L.B., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Walter, J. 2015. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(5): 303-10.

Biswas, R., Ghosal, S., Chattopadhyay, A., Datta, S. 2017. A comprehensive review on watermelon seed oil – an underutilized product. *IOSR Journal Of Pharmacy*, pp: 01-07.

Blekhman, R., Goodrich, J. K., Huang, K., Sun, Q., Bukowski, R., Bell, J.T., Spector, T.D., Keinan, A., Ley, R.E., Gevers, D., Clark, A.G. 2015. Host genetic variation impacts microbiome composition across human body sites. *Genome Biology*, 16(1): 191.

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 Microbiol Lett*, 349: 77-87.

Cardarelli, R.H., Saad, S.M.I., Gibson, G.R., Vulevic, J. 2007. Functional petit-suisse cheese: Measure of the prebiotic effect. *Anaerobe*, 13: 200-207.

Castro, F., de Souza, H.S.P. 2019. Dietary Composition and Effects in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients*, pp: 1398.

Ceyhan, N., Alç, H. 2012. Bağırsak mikrobiyotası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1): 107-113.

Chavarri, M., Marañón, I., Villarán, M.C. 2012. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria: Probiotics, Ed.: Everlon Cid Rigobelo, INTECH, U.K., London, pp: 501-540.

Collins, J.K., Wu, G., Perkins-Veazie, P., Spears, K., Claypool, L., Baker, R.A., Clevidence, B.A. 2007. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition*, pp: 261-266.

Coşkun, T. 2014. Teoriden kliniğe prebiyotikler, probiyotikler: Probiyotikler, Editörler: Kara, A. C. T., Akademi Yayınevi, İstanbul, pp: 56-71.

Del Castillo, M.D., Iriundo-DeHond, A., Martirosyan, D.M. 2018. Are functional foods essential for sustainable health? *Annals of Nutrition & Food Science*, 2(1): 1015.

Díaz-Vela, J., Totosa, A., Cruz-Guerrero, A.E., & Pérez-Chabela, M.L. 2013. *In vitro* evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, pp:1460-1467.

Dietrich, C.G., Kottmann, T., Alavi, M. 2014. Commercially available probiotic drinks containing *Lactobacillus casei* Dn- 114001 reduce antibiotic associated diarrhea. *World Journal of Gastroenterology*, 20(42): 15837-15844.

Dirican, L.K. 2017. Probiyotik yoğurdun fizyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine çam balının etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.

EFSA 2016. Update of the list of Qps-recommended biological agents intentionally EFSA until March 2016. *EFSA Journal*, 14: e04522.

Egbebi, A.O. 2014. Comparative studies on the three different species melon seed; (*Citrulus vulgaris*, *Cucumeropsis manni* and *Leganaria siceraria*). *Sky Journal of Food Science*, 3(1): 001-004.

El-Adawy, T.A., Rahma, E.H., El-Bedawey, A.A., Gafar, A.F. 2001. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. *Food Chemistry*, pp: 455-462.

Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S. 2011. Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(1): 11-17.

FAO 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Website, <http://www.fao.org/faostat/> Accessed 01 March 2018.

FAO-WHO. 2009. Guidelines for the evaluation of prebiotics in Food. Report of a joint FAO/WHP working group on drafting guidelines for the evaluation of prebiotics in foods. London: ON, Canada: FAO.

Fei, H., Liu, H., Ruifen, Z., Lihong, D., Lei, L., Youngxuan, M., Xuchao, J., Guangjin, W., Mingwei, Z. 2019. Physicochemical properties and prebiotic activities of polysaccharides from longan pulp based on different extraction techniques. *Carbohydrate Polymers*, pp: 344-351.

Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., Reyes-Gavilán, C. G. 2015. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. *BioMed Research International*, 412714: 13.

Fijan, S. 2014. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11: 4745-4767.

Fung, K.Y., Cosgrove, L., Lockett, T., Head, R., Topping, D.L. 2012. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *British Journal of Nutrition*, 108(5): 820-31.

Garster, H. 1997. Likopenin insan sağlığı için potansiyel rolü. *Journal of the American College of Nutrition*, 16: 109-126.

Gavlighi, H.A., Michalak, M., Meyer, A. S., Mikkelsen, J.D. 2013. Enzymatic DE polymerization of gum tragacanth: Bifidogenic potential of low molecular weight oligosaccharides. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61: 1272-1278.

Gerritsen, J., Rijkers, G., Smidt, H., De Wos, W.M. 2011. Intestinal microbiota in human health and disease: The impact of probiotics. *Genes & Nutrition*, 6(3): 209-240.

Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.C., Verbeke, K., Reid, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8): 491-502.

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 2008. Handbook of Prebiotics, Boca Raton: Taylor and Francis Group.

Gogineni, V.K., Morrow, L.E., Malesker, M.A. 2013. Probiotics: Mechanisms of action and clinical applications. *Journal of Probiotics and Health*, 1: 10.

Goldstein, E.J.C., Tyrrell, K.L., Citron, D.M. 2015. *Lactobacillus* species: Taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(2): 98-107.

Grajek, W., Olejinik, A., Sip, A. 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods, *Acta Biochimica Polonica*, 52: 665-671.

Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F. 2010. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 292-302.

Güner, N., Wehner, T.C. 2004. The genes of watermelon. Department of Horticultural Science, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7609, 39(6): 1175-1182.

Guo, S., Zhang, J., Sun, H., Salse, J., Lucas, W. J., Zhang, H., Zheng, Y., Mao, L., Ren, Y., Wang, Z., Min., J., Guo, X., Murat, F., Ham, B. K., Zhang, Z., Gao, S., Huang, M., Xu, Y., Zhong, S., Bombarely, A., Mueller, L. A., Zhao, H., He, H., Zhang, Y., Zhang, Z., Huang, S., Tan, T., Pang, E., Lin, K., Hu, Q., Kuang, H., Ni, P., Wang, B., Liu, J., Kou, Q., Hou, W., Zou, X., Jiang, J., Gong, G., Klee, K., Schoof, H., Huang, Y., Hu, X., Dong, S., Liang, D., Wang, J., Wu, K., Xia, Y., Zhao, X., Zequn, Z., Miao, X., Liang, X., Huang, B., Lv. T., Wang, J., Yin, Y., Yi, H., Li, R., Wu, M., Levi, A., Zhang, X., Giovannoni, J.J., Wang, H., Li, Y., Fei, Z., Xu, Y. 2013. The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*, 45(1): 51.

Hansen, P.A., Mocquot, G. 1970. *Lactobacillus acidophilus* (MORO) Comb. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 20(3): 325-327.

Hansen, M.E. 2012. Probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI-04 interactions with prebiotic carbohydrates using differential proteomics and protein characterization. *Ph. D. Thesis*, Technical University of Denmark, Enzyme and Protein Chemistry, Department of Systems Biology, Denmark.

Hanson, L., Dahlman-Höglund, A., Karlsson, M. 1999. Normal microbial flora of gut. In "Probiotics", Other Nutrition, Workshop Series, 42: 217-228. Hanson, L., Yolken R. Eds., Lippincott Raven Publishers, USA.

Hashemi, S.M., Shahidi, F., Mortazavi, S.A., Milani, E., Eshaghi, Z. 2013. Metabolism of extracted inulin from *Helianthus tuberosus* by *Lactobacillus* strains isolated from traditional Kordish cheese. *International Food Research Journal*, 20(6): 3283-3286.

He, S.B., Hong, X.Y., Huang, T.X., Zhang, W.Q., Zhou, Y.X., Wu, L.N., Yan, X.M. 2017. Rapid quantification of live/dead lactic acid bacteria in probiotic products using high-sensitivity flow cytometry. *Methods and Applications in Fluorescence*, 5(2): 1-9.

Herawati, E.R.N., Miftakhussolikhah, M., Nurhayati, R., Sari, K.W., Pranoto, Y. 2019. Oligosaccharides profile and prebiotic potential of gembolo tuber (*Dioscorea bulbifera*). IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, pp: 251.

Heydari, S., Mortazavian, A.M., Ehsani, M.R., Mohammadifar, M.A., Ezzatpanah, H. 2011. Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic compounds. *Italian Journal of Food Science*, 23(2): 153-163.

Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., Ross, R.P. 2018. The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. *Frontiers in Microbiology*, 10(9): 2107.

Hollister, E.B., Gao, C., Versalovic, J. 2014. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology*, pp: 1449-1458.

Huang, C.H., Li, S.W., Huang, L., Watanabe, K. 2018. Identification and classification for the *Lactobacillus casei* group. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1974.

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

Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J.H., Chinwalla, A.T., Giglio, M.G. 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402): 207.

Immerseel, V.F., Boyen, F., Gantois, I., Timbermont, L., Bohez L., Pasmans, F., Jacob, A. G., Etong, D., Tijjani, A. 2015. Proximate, mineral and anti-nutritional compositions of melon (*Citrullus lanatus*) Seeds. *British Journal of Research*, pp: 142-151.

Jacob, A.G., Etong, D.I., Tijjani, A. 2015. Proximate, mineral and anti-nutritional compositions of melon (*Citrullus lanatus*) seeds. *British Journal of Research*, pp: 2394-3718.

Jahromi, M.F., Liang, J.B., Abdullah, N., Goh, Y.M., Ebrahimi, R., Shokryazdan, P. 2016. Extraction and characterization of oligosaccharides from palm kernel cake as prebiotic. *BioResources*, 11(1): 674-695.

Johnson, J.T., Iwang, E.U., Hemen, J.z., Odey, M.O., Efiang, E.E., Eteng, O.E. (2012). Evaluation of anti-nutrient contents of watermelon *Citrullus lanatus*. *Ann Biol Res*. 3(11): 5145-5150.

Kabeerdoss, J., Devi, R.S., Mary, R.R., Prabhavathi, D., Vidya, R., Mechenro, J., Mahendri, N.V., Pugazhendhi, S., Ramakrishna, B.S. 2011. Effect of yoghurt containing *Bifidobacterium lactis* Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin 2 in healthy adult volunteers. *Nutrition Journal*, 10(138): 1-4.

Kale, S. 2017. Farklı kavun çekirdeklerinin bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Selçuk Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya.

Karatay E. 2019. Mikrobiyota, probiyotik ve prebiyotikler. *Anadolu Güncel Tıp Dergisi*, 1(3): 68-71.

Karlton-Senaye, B.D., Ibrahim, S.A. 2013. Impact of gums on the growth of probiotics. *Agro Food Industry High Technology*, 24(4): 10-14.

Karlton-Senaye, B.D., Williams, L., Ibrahim, S.A. 2015. Comparing the effect of gums on the growth of lactobacillus species in laboratory medium and fluid milk. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 2(3): 85-89.

Kaur, M., Singh, H., Jangra, M., Kaur, L., Jaswal, P., Dureja, C., Pinnaka, A.K. 2017. Lactic acid bacteria isolated from yak milk show probiotic potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(20): 7635-7652.

Kawakami, S., Araki, T., Obha, K., Sasaki, K., Kamada, T., Shimada, K. I., Han, K. H., Fukushima, M. 2016. Comparison of the effect of two types of whole mushroom (*Agaricus bisporus*) powders on intestinal fermentation in rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80: 2001-2006.

Kızıltaç, U. 2017. Kronik spontan ürtikerli hastalarda standart birinci basamak tedavi ile birlikte probiyotik kullanılması ürtiker aktivite skorları üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Kondepudi, K.K., Ambalam, P., Nilsson, I., Wadström, T., Ljungh, A. 2012. Prebiotic non-digestible oligosaccharides preference of probiotic *Bifidobacteria* and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. *Anaerobe*, 18(5): 489-497.

Kwon, J.H., Kim, M.Y., Seo, K.H., Lee, H.G., Kim, H. 2018. *In vitro* prebiotic activity of grape seed flour highly rich in flavonoid and dietary fiber. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(10): 621-625.

Lester, G.E. 1997. Melon fruit (*Cucumis melo* L.) fruit nutritional quality and health functionality. *Hort Technology*, 7(3): 222-227.

Liu, Z., Lin, X., Huang, G., Zhang, W., Rao, P., Ni, L. 2014. Prebiotic effects of almonds and almond skins on intestinal microbiota in healthy adult humans. *Anaerobe*, 26: 1-6.

Lozupone, C.A., Stombaugh, J.I., Gordon, J.I., Jansson, J.K., Knight, R. 2012. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature Research Journal*, pp: 220-230.

MacFabe, D.F., Cain, D.P., Rodriguez-Capote, K. 2020. Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, 176: 149-69.

Maischberger, T., Nguyen, T., Gugler, J., Zehetner, R., Splechtna, B., Kneifel, W., Rastall, A.R., Halritch, D. 2009. Investigations on the prebiotic effect of a novel galactooligosaccharide mixture: Using pure and mixed culture fermentations: Biocatalytic synthesis of prebiotic galactooligosaccharides: From enzyme production to product formation, Ed: Maischberger, T., University of Natural Resource and Applied Life Sciences, Department of Food Science and Technology, Vienna, pp: 87-104.

- Majeed, M., Nagabhushanam, K., Arumugam, S., Natarajan, S., Majeed, S., Pande, A., Beede, K., Ali, F. 2018.** Cranberry seed fibre: A promising prebiotic fibre and its fermentation by the probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856. *International Journal of Food Science and Technology*, pp: 1-8.
- Mandalari, G., Nueno Palop, C., Tuohy, K., Gibson, G.R., Bennett, R.N., Waldron, K.W., Bisignano, G., Narbad, A., Faulds, C.B. 2007.** *In vitro* evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. *Appl Microbiol Biotechnol*, 73: 1173-1179.
- Marchesi, J., Adams, D.H., Fava, F., Hermes, G.D.A., Hirschfield, G.M., Hold, G., Quraishi, M.N., Kinross, J., Smidt, H., Tuohy, K.M., Thomas, L.V., Zoetendal, E.G., Hart, A. 2015.** The gut microbiota and host health: A new clinical frontier. *Gut*, 65(2): 1-10.
- Markowiak, P., Śliżewska, K. 2017.** Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9): 1-30.
- McNabney, S.M., Henagan, T.M. 2017.** Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: A focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance. *Nutrients*, 9(12): 1348.
- McSweeney, P.L.H. 2004.** Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3): 73-190.
- Meira, Q.G.S., Magnani, M., de Medeiros Junior, F.C., Queiroga, R.C.R.D.E., Madruga, M.S., Gullón, B., de Souza, E.L. 2015.** Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 76: 828-838.
- Meybodi, N.M., Mortazavian, A.M. 2017.** Probiotic supplements and food products: A comparative approach. *Biochemical Pharmacology*, 6(2): 1-7.
- Milind, P., Kulwant, S. 2011.** Musk melon is eat-must melon. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(8).
- Miremadi, F., Sherkat, F., Stojanovska, L. 2016.** Hypocholesterolaemic effect and anti-hypertensive properties of probiotics and prebiotics: A review. *Journal of Functional Foods*, 25: 497-510.
- Mısır, Ü. 2012.** Yerel kavun (*Cucumis melo L.*) varyetelerinde karakterizasyon çalışması, *Yüksek Lisans Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Aydın.
- Moongngamn, A., Trachoo, N., & Sirigunwan, N. (2011).** Low molecular weight carbohydrates, prebiotic content, and prebiotic activity of selected food plants in Thailand. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(4): 269-274.

Morrison, D.J., Preston, T. 2016. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut microbes*, 7(3): 189-200.

Mortazavian, A.M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S. 2012. Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products, *New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology*, Prof. Tomasz Brzozowski (Ed.), ISBN: 978-953-51-0521-3, InTech, pp: 121-146.

Muñoz-Garach, A., Diaz-Perdigones, C., Tinahones, F.J. 2016. Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus Microbiota diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología Nutrición (English Edition)*, pp: 560-568.

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.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Nicolaus, B., Poli, A., Orlando, P. 2012. The prebiotic *Neurochemistry*, 101(3): 806-814.

Nguyen, N.H.T., Morland, C., Villa Gonzalez, S., Rise, F., Storm-Mathisen, S., Gundersen, V., Hassel, B. 2007. Propionate increases neuronal histone acetylation but is metabolized oxidatively by glia. Relevance for propionic academia. *Journal of Neurochemistry*, 101(3): 806-814.

Niamah, A.K., Sahi, A.A., Al-Sharifi, A.S.N. 2017. Effect of feeding soy milk fermented by probiotic bacteria on some blood criteria and weight of experimental animals. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3): 284-291.

Nwachoko, N., Oghale, O.V. 2017. Evaluation of anti-diarrhoea potential of watermelon seed (*Citrullus lanatus*) in albino rats. *Biochemical Pharmacology*, 6: 1000228.

O'Sullivan, L., Murphy, B., McLoughlin, P. 2010. Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Marine Drugs*, 8: 2038-2064.

O'Flaherty, S.J., Klaenhammer, T.R. 2010. Functional and phenotypic characterization of a protein from *Lactobacillus acidophilus* involved in cell morphology, stress tolerance and adherence to intestinal cells. *Microbiology*, 156(11): 3360-3367.

Ohashi, Y., Ushida, K. 2009. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*, pp: 80, 361–371.

Ojieh, G., Oluba, O., Ogunlowo, Y., Adebisi, K., Eidangbe, G., Orole, R. 2008. Compositional studies of *Citrullus lanatus* (Egusi melon) seed. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness*, pp: 1-5.

Okorie, P.A. 2018. Determining the physiochemical and phytochemical properties of local Nigerian White Melon seed flour. *International Journal of Research - GRANTHAALAYAH*, pp: 157-166.

Olano-Martin, E., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2002. Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 93 (3):505-511.

Omak, G., Özcan, T., Ersan, L.Y. 2016. Biyolojik detoksifikasyon ve probiyotikler. *Journal of Agricultural Faculty*, 30(1): 157-168.

Omigie, I., Agoreyo, F. 2014. Effects of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed on blood glucose and electrolyte parameters in diabetic Wistar Rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 18(2): 231.

Oseni, O.A. & Okoye, V.I. 2013. Studies of phytochemical and antioxidant properties of the fruit of watermelon (*Citrullus lanatus*). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 27(27): 508-514.

Orla-Jensen, S. 1919. The lactic acid bacteria. *Mem. Acad. Roy. Sci. Danemark*, 8(5).

Ozcan, O., Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayazit, A., Delikanlı, B. 2016. The use of prebiotics of plant origin in functional milk products. *Food Science and Technology*, 4: 15-22.

Palaniappan, A., Balasubramaniam, V.G., Antony, U. 2017. Prebiotic potential of xylooligosaccharides derived from finger millet seed coat. *Food Biotechnology*, pp: 264-280.

Palframan, R., Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2003. Development of a quantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, 37(4): 281-284.

Pallavi, J.K., Arcot J., Antony, U. 2017. Prebiotic efficiency of custard apple seeds. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, pp: 2456-2165.

Panesar, P.S. 2011. Fermented dairy products: Starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences*, 2(1): 47-51.

Patel, S., Goyal, A. 2012. The current trends and future perspectives of prebiotics research: A review. *Biotechnology*, 2(2): 115-125.

Pessione, E., Cirrincione, S. 2016. Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: Encrypted peptides and biogenic amines. *Frontiers in Microbiology*, 7: 876.

Prakash, S., Tomaro-Duchesneau, C., Saha, S., Cantor, A. 2011. The gut microbiota and human health with an emphasis on the use of microencapsulated bacterial cells. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, pp: 12.

Prentice, A.M. 2014. Dairy products in global public health. *The American Journal Clinical Nutrition*, 99(5): 1212-1216.

Rahman, Z., Siddiqui, M.N., Khatun, M.A., Kamruzzaman, M. 2013. Effect of Guava (*Psidium guajava*) leaf meal on production performances and antimicrobial sensitivity in commercial broiler. *Journal of Natural Products*, 6: 177-187.

Razavi, S.M.A., Milani, E. 2006. Some physical properties of watermelon seeds. *African Journal of Agricultural Research*, 1(3): 65-69.

Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: The concept revisited. *Journal of Nutrition*, 137: 830-7.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M-J., Léotoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Meheust, A. 2010. Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 104 (S2): 1-51.

Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A. 2013. Comparative characterization of phenolic and other polar compounds in Spanish melon cultivars by using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Food Research International*, pp: 1519-1527.

Rolim, P.M. 2015. Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology* (Campinas), 35(1): 3-10.

Ross, R.P., Stanton, C., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Coffey, A. 2000. Biotechnological approaches for cheese improvement using novel starters and enzymes. *Trends in Food Science*, (11), 96-104.

Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., Bressollier, P. 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, pp: 1-16.

Samona, A., Robinson, R.K. 1994. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *International Journal of Dairy Technology*, 47(2): 58-60.

Sanders, M.E. 2015. Probiotics in 2015: Their scope and use. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 49(1): 2-6.

Santiago-López, L., Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H.S., Mata-Haro, V., Vallejo-Cordoba, B., Gonzalez-Cordova, A.F. 2015. The effects of consuming probiotic-fermented milk on the immune system: A review of scientific evidence. *International Journal of Dairy Technology*, 68(2): 153- 303.

Scott, K.P., Gratz, S.W., Sheridan, P.O., Flint, H.J., Duncan, S.H. 2013. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research*, pp: 52-60.

Sender, L.M., Doyle, J.A., Villanueva-Amadoz, U., Pons, D., Diez, J.B., Ferrer, J. 2016. First records of the angiosperm genus *Sapindopsis* Fontaine (Platanaceae) in western Eurasia from middle to latest Albian deposits of Spain. *Review of Palaeobotany and Palynology*, pp: 10-21.

Shen, J., Obin, M.S., Zhao, L. 2013. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Molecular Aspects of Medicine*, pp: 39-58.

Soininen, T.H., Jukarainen, N., Auriola, S.O.K., Julkunen-Tiitto, R., Karjalainen, R., Vepsäläinen J.J. 2014. Quantitative metabolite profiling of edible onion species by NMR and HPLC–MS. *Food Chemistry*, pp: 499-505.

Sömer, V.F., Akpınar, D., Başığit Kılıç, G. 2012. *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda*, 37(3): 165-172.

Sommer, F., Bäckhed, F. 2013. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, pp: 227-238.

Sousa, S., Pinto, J., Pereira, C., Malcata, F.X., Bertoldo Pacheco, M.T., M. Gomes, A., Pintado, M. 2015. In vitro evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. *Food And Bioproducts Processing*, 95(7): 96-105.

Sun, Z., Harris, H.M., McCann, A., Guo, C., Argimon, S., Zhang, W., Yang, X., Synytsya, A., Mícková, K., Synytsya, A., Jablonsky, I., Speváček, J., Erban, V., Tabiri, B., Agbenorhevi, J.K., Wireko-Manu, F.D., Ompouma, E.I. 2016. Watermelon seeds as food: Nutrient composition, phytochemicals and antioxidant activity betty. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(2): 139-144.

Tabiri, B., Agbenorhevi, J.K., Wireko-Manu, F.D., Ompouma, E.I. 2016. Watermelon seeds as food: Nutrient composition, phytochemicals and antioxidant activity. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(2): 139-144.

Tanaka, M., Nakayama, J. 2017. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergology International*, pp: 515-522.

Taşdemir, A. 2017. Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler. *Kastamonu Sağlık Akademisi*, 2(1): 71-88.

Thamacharoensuk, T., Taweechotipatr, M., Kajikawa, A., Okada, S., Tanasupawat, S. 2017. Induction of cellular immunity interleukin-12, antiproliferative effect, and related probiotic properties of lactic acid bacteria isolated in Thailand. *Annals of Microbiology*, 67(8): 511-518.

The Human Microbiome Project Consortium 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome, *Nature*, pp: 207.

Tripathi, M.K., Giri, S.K. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9(1): 225-241.

Tunçkanat, F.F. 2016. Mikrobiyotalarda anaerop üstünlüğü. XXXVII Türk Mikrobiyoloji Kongresi pp: 85-87.

Tymczyszyn, E.E., Santos, M.I. , Costa, M.C., Illanes, A., Gómez-Zavagli, A. 2014. History, synthesis, properties, applications and regulatory issues of prebiotic oligosaccharides. *Carbohydrates Applications in Medicine*, 2014: 127-154.

Ursell, L.K., Haiser, H.J., Treuren, W.T., Garg, N., Reddivari, L., Vanamala, J., Dorrestein, C.D., Turnbaugh, P.T., Knight, R. 2014. The intestinal metabolome: An intersection between microbiota and host gastroenterology, pp: 1470-1476.

Usta, B., Yilmaz-Ersan, L. 2017. Evaluation of prebiotic potential of salep obtained from some *Orchidaceae* species, *Fresenius Environmental Bullet*, Vol. 26(10): 6191-6198.

Usta, B., Yılmaz-Ersan, L. ve Özcan, T. 2015. Prebiyotik etkinin değerlendirilmesinde nicel yaklaşımlar. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, 28-30 Nisan, Nevşehir, 321.

Usta-Gorgun, B., Yilmaz-Ersan, L. 2020. Short-chain fatty acid production by *Bifidobacterium* species in the presence of salep. *Electronic Journal of Biotechnology*, pp: 1–7.

Usta-Görgün, B., Yılmaz-Ersan, L. 2019. Bifidogenic effect of salep powder. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(2): 150-158.

Vouldoukis, I., Lacan, D., Kamate, C., Coste, P., Calenda, A., Mazier, D., Conti, M., Dugas, B. 2004. Antioxidant and anti-inflammatory properties of a *Cucumis melo* LC extract rich in superoxide dismutase activity. *Journal of Ethnopharmacology*, pp: 67-75.

Vulevic, J., Rastall, R.A., Gibson, G.R. 2004. Developing a quantitative approach for determining the *in-vitro* prebiotic potential of dietary oligosaccharides, *FEMS Microbiology Letters*, 236(1): 153-159.

Wani, S.P., Chander, G., Sahrawat, K.L., Narsimha Rao P. 2014. Integrated nutrient management using deoiled *Jatropha* cake for sustained and economic food production. *International Journal of Plant Production*, 8(4).

Wilberforce, J.O., Eze, O. 2017. Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaves extracts of *Mangifera indica* and *Carica papaya*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8): 3253-3259.

Wong, J.M.W., de Souza, R., Kendall, C.W.C., Emam, A., Jenkins, D.J.A. 2006. Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3): 235-423.

Yağcı, R. 2002. Prebiyotikler ve probiyotikler. *Çocuk Sağlığı Hastalıkları Dergisi*, 45: 337-344.

Yang, J., Xu, Y. 2018. Functional carbohydrate polymers: Prebiotics: Polymers for food applications, Ed.: Gutiérrez, T.J., USA, pp: 651-691.

Yang, K., Zhang, Y., Cai, M., Guan, R., Neng, J., Pib, X., Sun, P. (2020). *In vitro* prebiotic activities of oligosaccharides from the by-products in *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide extraction. *Royal Society of Chemistry Advances*, 10: 14794-14802.

Yang, M.L., Jiang, R., Liu, M., Chen, S.J., He, L., A., X.L., Zhou, K. 2017. Study of the probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from chinese traditional fermented pickles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3): 1-7.

Yasmin, A., Butt, M.S., Afzaal, M., Van Baak, M., Nadeem, M.T., Shahid, M.Z. 2015. Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: Unveiling the relationship. *Journal of Functional Foods*, 17: 189-201.

Yılmaz, K., Altındış, M. 2017. Sindirim sistemi mikrobiyotası ve fekal transplantasyon. *Nobel Med*, 13(1): 9-15.

Yılmaz, M., Seçilmiş, H. 2006. Gaz kromatografisi headspace sistemi ile süt ürünlerinde bazı aroma bileşenlerinin analizi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, 24-26 Mayıs, 2006, Bolu.

Yılmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit A., Özcan, T. 2012. The effect of prebiotics on the bioavailability of mineral elements in infant formulas. International Symposium of Probiotics Prebiotics in Pediatrics, 24-26 February, 2012, İstanbul.

Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Akpınar-Bayizit, A. 2018. “Evaluation of agro industrial wastes as prebiotic”, *International Congress on Engineering and Life Sciences*, 26-29 April, Kastamonu, Turkey, 958-960.

Yılmaz-Ersan, L., Özcan-Yılsay, T., Akpınar-Bayizit, A., Delikanlı, B. 2016. Bifidojenik faktör olarak laktoz türevlerinin önemi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(2): 79-90.

Zaheer. A., Wang, Y., Cheng, Q. and Imran, M. 2010. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin from production to their application: An overview. *African Journal of Biotechnology*, 9: 2843-2850.

Zhang, S., Hu, H., Wang, L., Liu, F., Pan, S. 2018. Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. *Food Chemistry*, 244: 232-237.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şengül TEKSOY

Doğum Yeri ve Tarihi : Gökçeada / 17.07.1994

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : 20 Temmuz Fen Lisesi (2010-2012)

Lisans : Mustafa Kemal Üniversitesi (2012-2016)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi (2018-2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Natura Gıda Golf Dondurma - Bursa - 02/2020 - Halen
Anadolu Üniversitesi - Eskişehir - 03/2018 - 06/2018
Çelebi Yemek Ür. Tes. Ltd. Şti. - Eskişehir - 12/2016 -
06/2017

İletişim (e-posta) : sengozelcelik@gmail.com

Yayınları :

Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Özyürek, M.B., Suna, G., **Teksoy, Ş.**, Öztürk, Z. 2019. Süt Ürünlerinin Ambalajlanmasında Biyosensör Uygulamaları, TÜRKAS Tüm Ürün, Kap ve Ambalaj Standartları Sempozyumu: Süt ve Süt Ürünleri, 16-18 Nisan, İstanbul, 54-63.

Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Suna, G., **Özçelik, Ş.**, Öztürk, Z., ve Özyürek, M.B. 2019. Süt Endüstrisinde Proses Kontrolünde Yeni Yaklaşımlar; Biyosensörler, 2. Ulusal Sütçülük Kongresi, 25-26 Nisan, İzmir, 201-202.

Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayizit, A., Özcan, Ö., Delikanlı-Kıyak, B., Özyürek, M. B., **Teksoy, Ş.** 2020. Potential Prebiotic Effects of Mushroom Extracts on the Viability of *Bifidobacterium Bifidum*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(3): 1452-1458.