

**YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN FONKSİYONEL PEYNİRALTI SUYU
İÇECEĞİ ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

ESRA SİRDAŞ

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

ŞUBAT 2013

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Onayı

.....
Prof. Dr. Yaşar Dürüst
Enstitü Müdürü

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

.....
Prof. Dr. Ömer Zorba
Anabilim Dalı Başkanı V.

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

.....
Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek
Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

İmza

- | | |
|---------------------------------------|-------|
| 1. Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek | |
| 2. Prof. Dr. Barbaros Özer | |
| 3. Doç. Dr. Ebru Şenel | |

ÖZET

YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN FONKSİYONEL PEYNİRALTI SUYU İÇECEĞİ ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Sırdaş, Esra
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek

Şubat 2013, xix+115 sayfa

Peynir endüstrisinin yan ürünü olarak ortaya çıkan peyniraltı suyu Türkiye’de etkin bir şekilde değerlendirilemediği için ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında pastörize edilmemiş peyniraltı suyunun değerlendirilmesi amacıyla aromalı fonksiyonel bir ürün üretilmesi, yüksek hidrostatik basınç teknolojisi (YHB) ve ısıl işlem kullanılarak bu ürünün raf ömrünün uzatılması ve ürünün raf ömrünün belirlenmesi amacıyla fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Fonksiyonel içecek üretimi için taze peyniraltı suyu bitkisel sterol (%0.0 ve 1.00), stabilizatör (%0.7), aroma (75 µL/mL), renk maddesi (20 µL/mL) ve şeker (%3) ilavesi yapılmış ve örnekler kontrol, YHB (200 MPa-5 dk, 400 MPa-5 dk ve 600 MPa-5 dk) ve ısı (85 °C-15 dk) grubu olarak ayrılmıştır. Proses işleminden sonra örneklerle starter kültür ilavesi yapılmış (*Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei*) ve 37 °C’de 18 saat inkübasyondan sonra 4 °C’de 42 gün süre ile depolanmış ve depolama süresince örneklerde pH, su aktivitesi, titrasyon asitliği, renk (L, a ve b), chroma, hue, ΔE, sedimentasyon, FT-IR profili, reolojisi, partikül büyüklüğü, zeta

potansiyeli, iletkenliği, SDS-PAGE, metal iyon miktarı, mikrobiyel ve duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir. Genel olarak örneklerin çoğu llen özelliklerinde değişim olmamakla birlikte ($p>0.05$), ısı ile proses edilen örneklerin vizkozitesi ve partikül büyüklüğünde diğer örneklere göre önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p\leq 0.05$). 600 MPa-5 dk ile proses edilen örnekler bazı özellikler açısından diğer örneklerden farklı bulunmakla beraber bu farklılık bazen depolama süresine bağlı olarak gelişmiştir ($p>0.05$).

Dolayısıyla, elde edilen veriler ışığında geliştirilen fonksiyonel ieeğin peynir altı suyunun değerlendirilmesinde iyi bir alternatif olabileceği ve YHB teknolojisinin bu ieeğinin raf ömrünün uzatılmasında alternatif olabileceği görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Yüksek hidrostatik basınç (YHB), peyniraltı suyu, fonksiyonel içecek, raf mr, bitkisel stanol

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE USE OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON FUNCTIONAL WHEY-BASED BEVERAGE

Sırdaş, Esra

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Gülsün Akdemir Evrendilek

February 2013, xix+115 pages

Due to the fact that whey and whey products from cheese industry are not efficiently evaluated and used in Turkey, it causes a great economical loss . Therefore, formulation of aromated functional drink with unpasteurized fresh whey, its processing by both high hydrostatic pressure (HPP) and heat, and measurement of physical, chemical, microbiological and sensory properties in order to determine shelf life are prompted in the study.

Functional drink was produced by addition of plant stanol (0.0 and 1.00%), stabilizator (0.7%), aroma (75 µL/mL), colorant (20 µL/mL) and sugar (%3), and the samples were seperated into three group as control, HPP processed (200 MPa-5 min, 400 MPa-5 min ve 600 MPa-5 min) and heat processed (85 °C-15 min). After processing, the samples were inoculated with starter cultures of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*, and stored at 4 °C for 42 days after the incubation at 37 °C for 18 h. During storage of the samples pH, water activity, titratable acidity, color (L, a and b), chroma, hue, ΔE, sedimentation, FT-IR profile, reological properties, particle size, zeta potential, conductivity, SDS-PAGE, metal ion concentration, microbiological and sensory properties were analyzed. In general, no significant difference were detected among the samples (p>0.05), but significant

differences were detected for viscosity and particle size of the heat processed samples ($p \leq 0.05$). The samples processed by 600 MPa for 5 min showed differences compare to other samples in some attributes which some of them developed depending on the storage period ($p > 0.05$).

It can be concluded that the formulated functional drink is a good option to evaluate whey, and HPP processing is a viable technology to extend shelf life of the formulated functional drink.

Key words: High pressure processing (HPP), whey, functional drink, shelf life, plant stanol

Aileme ve tüm dostlarıma

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana destek ve yardımcı olan, bilgisini ve manevi desteğini hiç bir zaman esirgemeyen, önerileri ile beni yönlendiren çok değerli ve saygıdeğer hocam Doç. Dr. Gülsün AKDEMİR EVRENDİLEK'e değerli katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde destek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok saygıdeğer hocam Prof. Dr. Barbaros ÖZER'e, tez jürimde yer alarak tezimin düzeltilmesinde değerli katkılarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ebru ŞENEL'e, SDS-PAGE analizlerinde yardımcı olan sayın Ahmet YAMAN'a ve ICP-MS analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Kerem GÜNGÖR'e teşekkürü borç bilirim.

Tezim sırasında duyuşal analizlerde zamanlarını esirgemeyen ve yardımlarını gördüğüm sevgili ailem ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tezin gerçekleşmesinde kullanılan alet ve ekipmanlar Kalkınma Bakanlığı Devlet Planlama Teşkilatı (DPT) tarafından desteklenen 2009 K 120 410 numaralı ve “Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Merkezi” başlıklı proje kapsamında satın alınmıştır. Dolayısıyla katkı ve desteklerinden dolayı DPT'ye teşekkürü borç biliriz.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ABSTRACT.....	iii
ÖZET.....	v
İTHAF.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1. Yüksek Hidrostatik Basınç.....	4
2.2. Yüksek Hidrostatik Basıncın Tarihsel Süreci.....	5
2.3. Yüksek Basınç Sistemi.....	6
2.4. Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi.....	8
2.5. Peyniraltı Suyu.....	9
2.6. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Besinsel Özellikleri.....	11
2.7. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	11
2.8. Peyniraltı Suyu İçecekleri.....	13
2.8.1. Alkolsüz peyniraltı suyu içecekleri.....	14
2.8.2. Alkollü peyniraltı suyu içecekleri.....	15
2.9. Fonksiyonel Gıdalar.....	15

2.9.1. Süt bazlı fonksiyonel gıdalar.....	19
2.10. Fitosteroller.....	21
2.11. Fitosterollerin Kolesterol Düşürücü Etkisi.....	22
2.12. Fitosterollerin Güvenilirliği.....	24
2.13. Probiyotikler.....	25
2.14. Probiyotiklerin Etki Mekanizması.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Peyniraltı suyu.....	29
3.2.2. Starter kültürler.....	29
3.3.3. Fonksiyonel bileşenler.....	29
3.3.4. Yüksek hidrostatik basınç ünitesi.....	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Aromalı peyniraltı suyu içeceği üretimi.....	30
3.2.2. Aromalı peyniraltı suyu içeceğinin prosesi.....	32
3.2.3. Örneklerin inokülasyonu.....	33
3.2.4. Mikrobiyolojik analizler.....	33
3.2.5. Fiziksel ve kimyasal analizler.....	35
3.2.5.1. pH.....	35
3.2.5.2. Su aktivitesi.....	35
3.2.5.3. Titrasyon asitliği.....	36
3.2.5.4. Renk.....	36
3.2.5.5. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (Fourier transform infrared spectroscopy- FTIR).....	37

3.2.5.6.	Reolojik analizler.....	38
3.2.5.7.	Zeta potansiyeli ve kondaktivite ölçümü.....	39
3.2.5.8.	Partikül büyüklüğü ölçümü.....	40
3.2.5.9.	Endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS).....	40
3.2.5.10.	SDS poliakrilamid jel elektroforezi (SDS- PAGE).....	41
3.2.5.11.	Sedimentasyon analizi.....	45
3.2.6.	Duyusal analizler.....	45
3.2.7.	İstatistiksel analizler.....	46
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	48
4.1.	pH.....	48
4.2.	Titrasyon Asitliği.....	49
4.3.	Su Aktivitesi.....	49
4.4.	Renk.....	51
4.5.	Zeta Potansiyeli ve Kondaktivite.....	55
4.6.	Reolojik Analizler.....	56
4.7.	Partikül Büyüklüğü Ölçümleri.....	62
4.8.	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Ölçümleri.....	64
4.9.	SDS-PAGE Analizi.....	67
4.10.	ICP-MS Analiz Sonuçları.....	70
4.11.	Sedimentasyon Analizi.....	74
4.12.	Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	77
4.13.	Duyusal Analiz Sonuçları.....	79
5.	SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	85

KAYNAKLAR.....	88
EK BİLGİLER.....	101

SİMGELER ve KISALTMALAR

BCG	: Bromocresol green
BT	: Backscattering
FOSHU	: Foods for Specified Health Use
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
ICP-MS	: Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer
LDL	: Low density lipoprotein
M	: Molarite
MRS	: de Man, Rogosa and Sharpe
N	: Normalite
PAS	: Peyniraltı suyu
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
T	: Transmission
TEMED	: N,N,N,N-Tetrametil etilendiamin
Tris	: 2-Amino-2-Hidroksimetilpropan-1,3-diol
v/v	: Volume to volume
w/v	: Weight per volume
YHB	: Yüksek hidrostatik basınç

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 4.1. ICP-MS ile analiz sonucu elde edilen deneme örneklerine ait element tablosu.....	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Direkt ve endirekt yüksek basınçta gıda işlemenin şeması.....	7
Şekil 2.2. Ambalajlanmış ürünlerin işlenmesinde kullanılan yüksek basınç uygulama sistemi.....	8
Şekil 3.1. Aromalı fonksiyonel peynir altı suyu içeceği üretim akış şeması.....	34
Şekil 3.2. Deneme örneklerinin duyuusal değerlendirmelerinde kullanılan form..	47
Şekil 4.1. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca pH değerlerinde meydana gelen değişim.....	49
Şekil 4.2. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi.....	50
Şekil 4.3. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca su aktivitesi değerlerinde meydana gelen değişim.....	50
Şekil 4.4. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca L renk değerlerinde meydana gelen değişim.....	51
Şekil 4.5. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca a renk değerlerinde meydana gelen değişim.....	52
Şekil 4.6. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca b renk değerlerinde meydana gelen değişim.....	52
Şekil 4.7. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca ΔE renk değerlerinde meydana gelen değişim.....	54
Şekil 4.8. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca Hue renk değerlerinde meydana gelen değişim.....	54

Şekil 4.9.	Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca zeta potansiyeli değerlerinde meydana gelen değişim.....	55
Şekil 4.10.	Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca iletkenlik değerlerinde meydana gelen değişim.....	56
Şekil 4.11.	Isı ve ısı+stanol, 200 MPa, 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.....	56
Şekil 4.12.	Isı ve ısı+stanol, 400 MPa, 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.....	57
Şekil 4.13.	Isı ve ısı+stanol, 600 MPa, 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.....	58
Şekil 4.14.	Isı, ısı+stanol, 200 MPa ve 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks komponent (kk) ve elastik komponent (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.....	59
Şekil 4.15.	Isı, ısı+stanol, 400 MPa ve 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks komponent (kk) ve elastik komponent (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.....	60
Şekil 4.16.	Isı, ısı+stanol, 600 MPa ve 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks komponent (kk) ve elastik komponent (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.....	61

Şekil 4.17.	Isı, ısı+stanol, 200 MPa ve 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.....	62
Şekil 4.18.	Isı, ısı+stanol, 400 MPa ve 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.....	63
Şekil 4.19.	Isı, ısı+stanol, 600 MPa ve 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.....	64
Şekil 4.20.	Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün FT-IR spektrumu (ısı+S ve 200 MPa+S, 400 MPa+S ve 600 MPa+S 5 dak proses edilmiş örnekler).....	65
Şekil 4.21.	Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün FT-IR spektrumu (ısı ve 200, 400 ve 600 MPa 5 dak proses edilmiş örnekler).....	66
Şekil 4.22.	Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.....	68
Şekil 4.23.	Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.....	68
Şekil 4.24.	Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 42. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.....	69
Şekil 4.25.	Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 42. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.....	69
Şekil 4.26.	Isı ile proses edilmiş ve stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	74

Şekil 4.27.	Isı ile proses edilmiş ve stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	74
Şekil 4.28.	400 MPa basınç altında 5 dak süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	75
Şekil 4.29.	400 MPa basınç altında 5 dak süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	75
Şekil 4.30.	600 MPa basınç altında 5 dak süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	76
Şekil 4.31.	600 MPa basınç altında 5 dak süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.....	76
Şekil 4.32.	Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin <i>L. acidophilus</i> La-5 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).....	78
Şekil 4.33.	Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin <i>L. casei</i> Lbc-81 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).....	79
Şekil 4.34.	Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin başlangıcında (0. gün) duyuşal değerlendirme sonuçları.....	80
Şekil 4.35.	Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin başlangıcında (0. gün) duyuşal	

	değerlendirme sonuçları.....	80
Şekil 4.36.	Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin ortalarında (21. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.....	81
Şekil 4.37.	Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin ortalarında (21. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.....	81
Şekil 4.38.	Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin sonunda (42. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.....	83
Şekil 4.39.	Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin sonunda (42. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.....	83

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Peyniraltı suyu (PAS), peynir üretimi sırasında oluşan önemli bir yan üründür ve içerisinde ağırlık olarak su, laktoz ve mineralleri bulundururken düşük düzeyde yağ ve düşük molekül ağırlıklı proteinleri içermektedir. PAS proteinleri, kurumaddenin %1'inden daha azını oluşturmaktadır (Beucler, 2004). PAS'ın özellikleri peynirin üretim teknolojisine ve peynir üretiminde kullanılan sütün kalitesine bağlıdır (Jeličić ve ark., 2008).

PAS, sütte bulunan kuru maddenin (protein, yağ, mineral, laktoz) neredeyse yarısını içermektedir. Peynir üretimi sırasında, kullanılan süt miktarının neredeyse %90'ı PAS'a dönüşmektedir. Kazenin pıhtılaşma türüne bağlı olarak, tatlı ya da asit peyniraltı suyu olarak üretilmektedir. Protein içeriği, tatlı ve asit peyniraltı suyunda benzerdir (Jeličić ve ark., 2008; Beucler, 2004).

Sütte bulunan suda çözünen vitaminler PAS'a geçmektedir, fakat miktarları oldukça değişkendir. PAS, peynir üretiminde kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin etkinliği nedeniyle süttekinden daha fazla miktarda riboflavin içermektedir. Kurumaddesindeki mineral bileşimi peynir üretim teknolojisine bağlı olarak değişmektedir (%7-12). PAS, sütteki hemen hemen tüm çözünen tuzları ve mikroelementleri içermektedir (Jeličić ve ark., 2008). Bu nedenle, peyniraltı suyundan üretilen içecekler, yüksek besleyici değere sahiptir. Yapılan çalışmalar, PAS proteinlerinin bilinen sağlık yararlarının yanında, antikarsinojenik ve anti-kolestolemik etkilerinin de var olduğunu kanıtlamıştır (Jeličić ve ark., 2008). Önceden, PAS sadece bir atık olarak görülmekte iken, günümüzde birçok alanda ve

çeşitli fonksiyonel gıdaların üretiminde başarıyla kullanılmaktadır (Beucler, 2004; Jeličić ve ark., 2008).

Gıda endüstrisinde son yıllarda fonksiyonel gıdaların üretimi ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır ve bu araştırmalarda düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) düşürmek için bitki sterollerini veya stanol ile zenginleştirilmiş gıdaların geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar artarak devam etmektedir (Katan ve Roos, 2004). Bu çalışmalar, bitki stanol esterlerinin vücuttaki kolesterol emilimini ve LDL kolesterolünü azalttığını kanıtlamaktadır (Normén ve ark., 2000; Hallikainen ve ark., 2000; Plat ve Ronald, 2005).

Bitkisel stanol/sterollerin güvenilirliği üzerine çok sayıda kapsamlı araştırma yürütülmüş ve herhangi bir yan etkisi görülmemiştir. Bu nedenle, fitosteroller etkili ve güvenli bir kolesterol düşürücü fonksiyonel gıda katkısı olarak nitelendirilmiştir (Plat ve Ronald, 2005). Daha sonraki yıllarda ve özellikle 1980'lere gelindiğinde, bitkisel sterol ve stanollerin gıdalara eklenebileceğine karar verilmiştir (Law, 2000).

Probiyotikler gıdalarda kullanılan diğer bir fonksiyonel unsurdur. Probiyotikler, gastrointestinal sistem boyunca canlılığını sürdüren bakterilerdir ve tüketiciler üzerinde yararlı etkiler ortaya koymaktadır (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001; Katan ve Roos, 2004). Probiyotikler arasında sayılan laktik asit bakterilerinin de sağlık üzerine bazı olumlu etkileri belgelenmiştir (de Roos ve Katan, 2000; Katan ve Roos, 2004). Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı probiyotik bakterilerin ve kolesterol düşürücü etkisi olan bitkisel stanolün peyniraltı suyu içeceği üretiminde kullanımının peyniraltı suyu içeceklerinin fonksiyonel özelliklerini arttıracak olduğu düşünülmektedir.

Tüketicilerin, katkısız ve tazeliğini olabildiğince muhafaza eden gıdalara yönelik talepleri sonucu yeni gıda işleme teknolojilerine olan ilgi de artmaktadır (Earnshaw, 1996). Isıl işlemlerin gıdalar üzerinde istenmeyen bazı etkilerinin olduğu

bilinmektedir. Yüksek hidrostatik basınç (YHB) teknolojisi (100-1000 MPa), düşük veya orta derecedeki sıcaklıklarda mikrobiyal inaktivasyonu sağladığı için gıda üreticilerinin oldukça ilgisini çeken pastörizasyon amaçlı bir teknolojidir (Cheftel ve Culioli, 1997; Crehan ve ark., 2000). Gıda işlemede YHB teknolojisine olan talep giderek artmaktadır. Bunun bir diğer nedeni ise, tüketicilerin işlenmiş gıdaların renk, aroma, tat ve tekstür özelliklerinin, gıdaların işlenmemiş halleri ile benzer halde ve daha doğal olmasını istemeleridir; bu nedenle YHB geleneksel ısı işlemlere göre çok fazla avantaja sahiptir (Crehan ve ark., 2000).

Dolayısıyla bu çalışma kapsamında;

Bitkisel stanol ve probiyotik özelliği bulunan laktik asit bakterilerini kullanarak aromalı fonksiyonel özelliğe sahip peyniraltı suyu içeceğinin (son ürünün) formülasyonu ve bu ürünün muhafazasında yeni bir muhafaza yöntemi olan yüksek hidrostatik basınç (YHB) teknolojisinin ısı işlemin yerine kullanılabilirliğinin araştırılması, depolama süresi boyunca peyniraltı suyu içeceğinin kalite özelliklerinde meydana gelen değişimlerin izlenmesi ve kolesterol düşürücü etkiye sahip nutrasötik bir bileşen olan stanolün içeceklerde kullanım olanaklarının araştırılması hedeflenmektedir.

BÖLÜM 2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Yüksek Hidrostatik Basınç

Gıdalarda meydana gelen mikrobiyolojik ve enzimatik bozulmaları engelleyerek raf ömrünü uzatmak amacıyla değişik gıda proses teknikleri geliştirilmiştir. Gıdaların korunması sırasında asıl amaç, bozulmanın önlenmesi olmakla birlikte proses süresince gıdanın beslenme değeri, renk, aroma ve fiziksel yapısına ait duyusal niteliklerinin, kısaca kalitesinin, en az düzeyde etkilenmesi gerekmektedir (Şanal ve Çalimli, 2000). Bu amaçla, yeni gıda proses metotları üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Yüksek hidrostatik basınç (YHB), vurgulu elektrik alanı, ohmik ısıtma, ultraviyole ışık, mikrodalga, manyetik alan, yüksek yoğunluklu titreşimli ışık ve ozonlama gibi yeni uygulamalar bu teknolojilerden bazılarıdır (Hugas ve ark., 2002).

YHB uygulaması; sıvı veya katı gıdalara ambalajlı veya ambalajsız olarak 100-1000 MPa basınç aralığında ve genellikle 0 ile 100 °C arasındaki sıcaklıklarda yapılan bir işlemdir. Gıdaların muhafazası amacıyla YHB ekipmanlarının tasarımı daha çok maksimum 700 MPa basınç uygulayabilecek nitelikte yapılmaktadır (Earnshaw, 1996; Minerich ve Labuza, 2003). Genellikle oda sıcaklığı ya da oda sıcaklığının biraz altında veya üstünde yapılan 250-300 MPa aralığında 10 dk'lık bir uygulama birçok gıdadaki vejetatif hücreleri tamamen inaktive edebilmektedir. Bu nedenle bu işleme 'soğuk pastörizasyon' da denilmektedir (Earnshaw, 1996; Minerich ve Labuza, 2003; Yemencioğlu ve Özkan, 2004; Özcan ve Obuz, 2006). Endüstriyel

kullanımlarda ise yüksek basınç değerleri genellikle 300 ile 600 MPa arasında değişmektedir.

2.2. Yüksek Hidrostatik Basıncın Tarihsel Gelişimi

YHB'nin gıdalar üzerine uygulanmasına yönelik çalışmalar 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. YHB uygulaması ile bakterilerin inaktivasyonuna dair ilk çalışma H. Roger tarafından 1895 yılında yapılmıştır. Gıda bilimi ve teknolojisi açısından YHB ile mikrobiyal inaktivasyonu açıklayan en önemli araştırma ise Bert Hite tarafından 1899 yılında yapılan çalışmadır (Karatzas ve Bennik, 2002). Bu çalışmada oda sıcaklığındaki çiğ süte 1 saat süre ile 600 MPa'lık basınç uygulanmış ve sütün raf ömrünün yaklaşık 4 gün uzadığı tespit edilmiştir. 200 MPa'lık basınç uygulamasında ise sütün asitliğinin ilerlemesinin yaklaşık 24 saat süre ile yavaşlatıldığı belirlenmiştir (Buckow, 2006).

Larsen ve arkadaşlarının 1918'de yaptığı bir çalışmaya göre, 14 saat boyunca 607 MPa'lık basınç uygulandığında vejetatif hücrelerde inaktivasyon gözlenmiştir. Bakteri sporlarının ise basınca karşı aşırı derecede dirençli olduğu, 1214 MPa gibi yüksek bir basınç uygulamasıyla inaktive edilebildikleri gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda YHB'nin mikrobiyel gelişmeyi inhibe ettiği ve hücrelerin ölümüne sebep olduğu kanıtlanmıştır (Larsen ve ark, 1918).

YHB uygulamalarının gıda endüstrisinde uygulanabilirliğinin ortaya konulması 1980'li yılları bulmuştur. 1990'lı yıllara gelindiğinde, yüksek basınç kullanılarak üretilen meyve suyu, marmelat, reçel ve yoğurt gibi çeşitli ticari gıda ürünleri Japon gıda pazarında satışa sunulmaya başlanmıştır (Trujillo ve ark., 2002).

Günümüzde ise gıda endüstrisinde YHB uygulamaları, meyve suları, meyve jöleleri, marmelatlar, reçeller, meyveli yoğurtlar, salata sosları, meyve sosları, istiridyeler, çeşitli işlenmiş et ürünleri, domuz eti ve ürünleri gibi birçok gıdanın pastörizasyonunda ve ayrıca gıdaların dondurulması ve çözündürülmesi, nişastaların jelatinizasyonu, çikolataların sertleştirilmesi, etlerin gevrekliğinin artırılması, sebzelerin kabuklarının soyulması gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Ohlsson ve Bengtsson, 2002; Trijillo ve ark., 2002; Yemencioğlu ve Özkan, 2004).

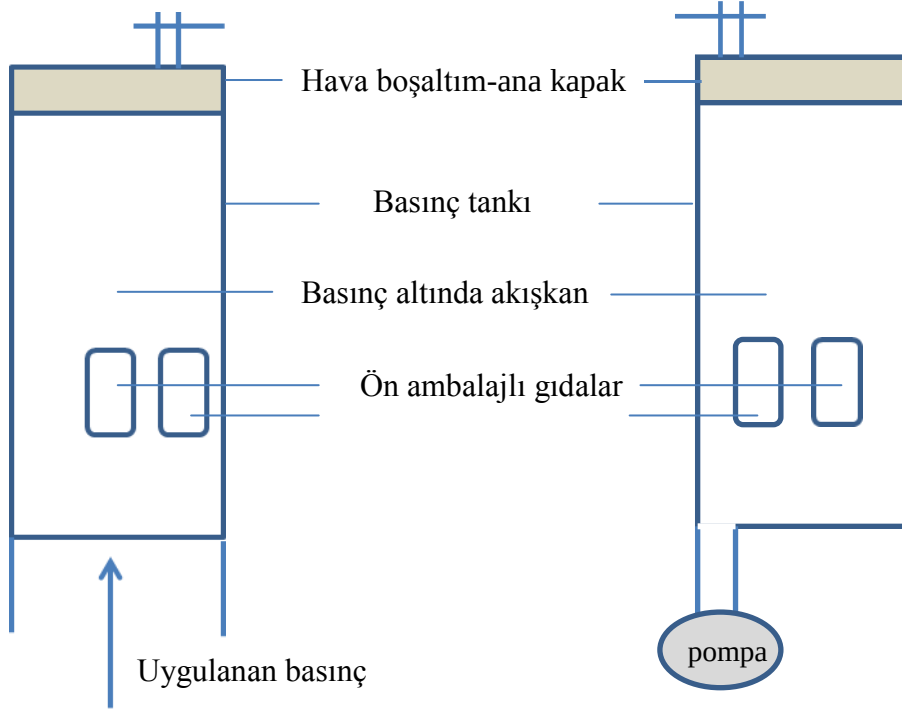
2.3. Yüksek Basınç Sistemi

YHB uygulamasının temel prensibi, ürünü çevreleyen sıvıya uygulanan kuvvetle sıvının sıkıştırılması ilkesine dayanmaktadır. Basınç altında moleküller Le Chatelier Prensibine uymaktadır. Denge durumundaki bir sisteme dışardan bir kuvvet uygulandığında, sistem bu etkiyi azaltıcı yönde yeni bir denge hali oluşturmaktadır. Bu durum, basınçtaki artışa karşı hacimde azalış oluşması anlamına gelmektedir. Kapalı, sızdırmaz bir sistem içerisindeki gıdaya uygulanana basınç, gıdanın bileşimine, şekline ve büyüklüğüne bağlı olmaksızın gıdanın her noktasına eşit şekilde ulaşmaktadır (Earnshaw, 1996; Hugas ve ark., 2002; Huppertz ve ark., 2002).

Ortam olarak yağ ve gaz gibi çeşitli akışkanlar kullanılabilmesine rağmen, güvenilirliği, ekonomik oluşu ve pratik kullanılabilirliği nedeniyle daha çok su tercih edilmektedir. Sistem genellikle oda sıcaklığında çalıştırılmaktadır, fakat istenildiği takdirde farklı sıcaklıklarda da çalıştırılabilmektedir. YHB ile işlem süresi diğer uygulamalara göre daha kısadır ve bu yöntem ile enerjiden tasarruf edilmektedir (Crehan ve ark., 2000).

Direkt basınç uygulama

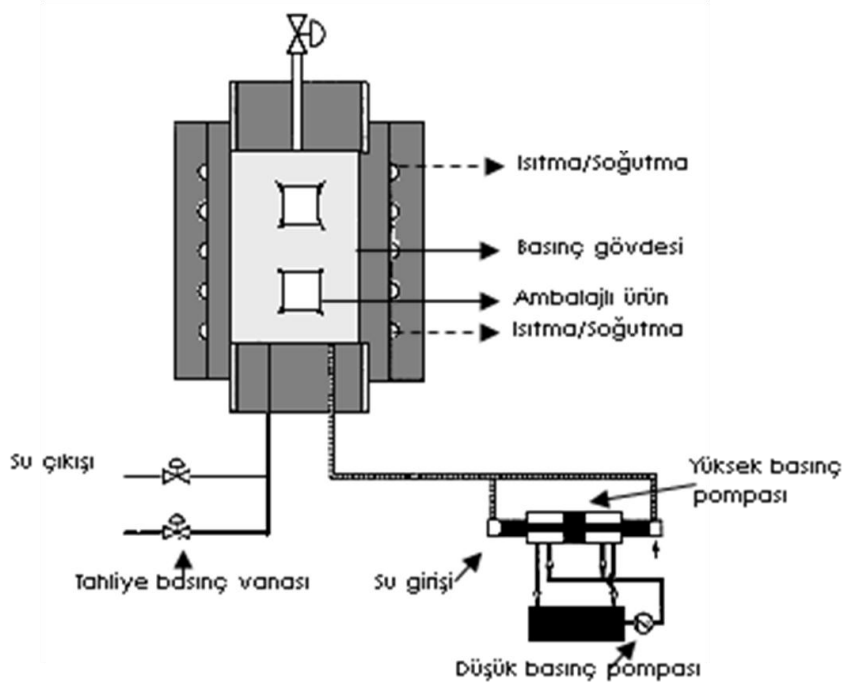
İndirekt basınç uygulama



Şekil 2.1. Direkt ve endirekt yüksek basınçta gıda işlemenin şeması (Earnshaw, 1996; Huppertz ve ark., 2002).

Bir yüksek basınç sistemi başlıca dört bölümden oluşmaktadır. Bunlar; basınç kabı ya da hücresi ile kapağı, basınç jeneratörü, sıcaklık kontrol bölümü ve ürün işleme (yükleme) bölümüdür. Kap içindeki basınç ya direkt ya da indirekt sıkıştırma (kompresyon) ile sağlanmaktadır (Şekil 2.1). Direkt sıkıştırma işleminde hidrolik basınç bir piston üzerine uygulanmakta ve işlem hücresinin hacmi azaltılmaktadır. İndirekt sıkıştırmada ise, bir yüksek basınç pompası veya intensifier (yükseltici), direkt olarak basınç uygulayıcı ortamı işleme hücresine pompalamaktadır. Gıdalara yüksek basınç uygulamalarında, kesikli ve yarı sürekli sistemler kullanılmaktadır. Kesikli sistemlerde, basınç hücresine gıda konulduktan sonra belirli süre basınç uygulanmakta ve ardından basınç kaldırılmaktadır. Yarı sürekli sistemlerde ise birkaç basınç kabı yan yana bulunmakta, birisine basınç uygulanırken diğeri

dekomprese edilmektedir. Böylece, basınç altındaki bir kabın enerjisi diğer kaba aktarılabilmekte, üretim zamanı kısaltılmakta ve dolayısıyla maliyet azalmaktadır (San Martin-Gonzalez ve ark., 2006; Datta ve Deeth, 1999; Hayaloğlu ve Özer, 2011; Koca, 2011). YHB sistemlerinde, gıdalar ambalajlı veya ambalajsız olarak basınçla proses edilebilmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Ambalajlanmış ürünlerin işlenmesinde kullanılan yüksek basınç uygulama sistemi (Singh ve Yousef, 2001; Koca, 2011).

2.4. Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

YHB'nin mikroorganizma inaktivasyon oranı, uygulanan basıncın seviyesi, basınç uygulama süresi, baskı azaltma süresi, sıcaklık, ürünün başlangıç sıcaklığı, su aktivitesi, pH, gıda bileşenleri gibi bir çok değişken parametreler ile bağlantılıdır. Yüksek basıncın mikroorganizmalar üzerine olan etkisi, hücre membran geçirgenliği,

yağ asidi kompozisyonları, protein ve enzimlerin denatürasyonu ve vakuol oluşumu ile ilgilidir (Cheftel ve Culioli, 1997; Hugas ve ark., 2002).

YHB'nin etkinliğinde, mikroorganizma türü de oldukça önemlidir. Aynı mikroorganizma cinsinin farklı türleri yüksek basınca karşı aynı direnci göstermeyebilir. Isıya dirençli mikroorganizmalar, genellikle ısıya duyarlı olan mikroorganizmalardan daha yüksek oranda basınca dirençlidir. Mayalar ve küflerin vejetatif formları 200-300 MPa basınç uygulaması ile inaktive edilebilmektedirler. Gram (-) bakteriler, gram (+) bakterilere oranla basınca ve ısıya karşı daha hassastırlar. YHB'ye karşı en büyük direnci bakteri sporları göstermektedir. Sporların inaktivasyonu için YHB'nin iki aşamalı olarak uygulanması gerektiği konusunda birçok çalışma bulunmaktadır. Virüslerin ise basınca karşı dirençleri oldukça değişkendir (Metrick ve ark., 1989; Smelt 1998; Heinz ve Knorr, 1998; Hugas ve ark., 2002; Garriga ve ark., 2004).

2.5. Peyniraltı Suyu

Peyniraltı suyu (PAS), peynir üretiminde pıhtıyı süzme işleminden geri kalan, süt bileşenlerinden, laktalbümin ve laktoglobülin gibi serum proteinleri ile değişen düzeylerde laktoz, yağ, mineral madde ve vitaminleri içeren, yarı saydam, yeşilimsi-sarı renkte önemli bir sütçülük yan ürünüdür (Kurt, 1990; Jelcic ve ark., 2008). Peyniraltı suyu, yaklaşık %93 civarında su içermekte ve sütün toplam kuru maddesinin %50'sini barındırmaktadır (Jelcic ve ark., 2008). PAS, yaklaşık olarak süt proteinlerinin %20'sini içermektedir. PAS, fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikleri yüksek, proteinlerce zengin olup dengeli beslenme için vücudun gereksinim duyduğu temel aminoasitlerin alımı açısından uygun bir kaynaktır

(McIntosh ve ark., 1998). Peynir üretiminde ortalama her 100 kilo sütün 85-90 kg'ı PAS'a çevrilmektedir. PAS'ın özellikleri ve bileşimi peynir üretim teknolojisine ve peynir üretiminde kullanılan sütün kalitesine bağlı olarak değişim göstermektedir.

Zengin besin değerine sahip olan PAS'ın büyük kısmı endüstriyel düzeyde değerlendirilememektedir. Büyük işletmeler PAS'ı kendileri peyniraltı suyu tozuna dönüştürmekte veya süttozu fabrikalarına ya çok düşük ücret karşılığında ya da ücretsiz olarak vermektedirler. Küçük süt işletmeleri genellikle çözünür proteinlerden tuzsuz lor üretirken, geri kalan materyali atmaktadır. Birçok mandıra açısından miktarın küçüklüğü nedeniyle bu üretim anlamlı görülmemekte, bu nedenle de PAS'ın tamamı atılmaktadır (DPT, 2001; Hayaloğlu ve Özer, 2011). Değerlendirilmeden atılması durumunda PAS'ın fabrikadan uzaklaştırılması için özel kanalizasyon sistemlerine ihtiyaç duyulmakta veya kanalizasyon sisteminin bulunmadığı durumlarda bu maddenin tanklarla taşınması gerekmektedir. Eğer değerlendirilmeyecekse, PAS'ın atıldığı yerler yerleşim alanlarından uzak olmalı ve kesinlikle akarsu ya da durgun sulara bırakılmamalıdır (Kurt, 1990; AlpKent ve Göncü, 2003). Biyolojik oksijen gereksinimi yüksek olan bir atık olduğu için arıtılmadan çevreye verilmesi kirliliğe neden olmaktadır (DPT, 2001; Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2011 yılı verilerine göre, ülkemizde çiğ süt üretim miktarı toplam 15.056.211 tondur (TÜİK, 2011). Bir yıl içerisinde toplam çiğ sütün %50'sinden peynir üretildiği düşünülürse 7.500.000 ton süttten peynir üretildiği ve 6.375.000 ton PAS'ın açığa çıktığı düşünülmekte ve bu nedenle PAS'ın değerlendirilmesinin ne kadar önemli olduğu daha iyi anlaşılmaktadır.

2.6. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Besinsel Özellikleri

PAS proteinleri, yüksek besleyici ve gıda ürünlerindeki çok yönlü fonksiyonel özellikleri nedeniyle değerli gıda bileşenleridir. Bu ürünler, gıdalarda genellikle yapı ve tekstürü geliştirmek için kullanılmış olsalar da besinsel ve fizyolojik fonksiyonları nedeniyle daha yaygın kullanımı yönünde çalışmalar mevcuttur. PAS proteinleri diğer temel protein kaynaklarıyla karşılaştırıldıklarında yüksek biyolojik değere sahiptirler. Bilinen besinsel proteinler (yumurta, süt, kazein, kırmızı et, soya, mısır ve buğday proteinleri) PAS proteinleri ile karşılaştırıldığında sonuçlar PAS proteinlerinin vücudun aminoasit ve enerji gereksinimini karşılamada çok etkili protein olduğunu göstermiştir (Regester ve ark., 1996; Anderson ve Moore, 2004; Hayaloğlu ve Özer, 2011).

2.7. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

PAS proteinlerinin gıdalardaki temel fonksiyonu, öncelikle vücuda diyet ile yeterli seviyede azot ve aminoasit alımını sağlamaktır. PAS proteinlerinin insan sağlığı üzerine çok sayıda faydası bulunmaktadır. PAS'ın içerdiği proteinler (laktoferrin, laktoferrisin vd.) antioksidan etkilere sahiptir (Ha ve Zemel, 2003; Cribb, 2005). PAS proteinleri, vücuttaki antioksidan düzeyini koruyan sülfür içeren aminoasitlerin iyi bir kaynağıdır (Pasin ve Miller, 2000; Beucler, 2004). PAS proteinleri, vücuttaki antioksidan savunmasını geliştirerek, vücudun oksidan yükünü azaltmaktadır (Walzem, 1999; Beucler, 2004). Vücuttaki antioksidan savunmasının gelişmesi ile kanser ve damar sertliği gibi birçok hastalık riskinin azalması ve

vücuttaki yüksek kolesterol seviyesinin düşmesi sağlanmaktadır (Zhang ve Beynen 1993; Parodi 1998; Harper, 2000).

PAS proteinleri güçlü bir antikarsinogenik etki göstermektedir. Kolon kanseri gibi bazı kanser türlerine karşı koruyucu etkiye sahiptirler. Ayrıca tüketildiğinde kişiye besleyici faydalar sağlamanın yanında beyin tümörü, lenf kanseri gibi riskleri de azaltıcı etki göstermektedirler (Marshall, 2004; Lucas, 1999; Smithers, 1998; Ganjam ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarda süt tüketen insanların süt tüketmeyenlere göre kolon ve rektum kanserine yakalanma olasılığının daha düşük olduğu gözlenmiştir (Walzem, 1999). Aynı zamanda sütte bulunan kalsiyum ve D vitamininin de kolorektal kansere karşı koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Walzem, 1999; Beucler, 2004).

PAS'ın tüketimi sonucu hipertansiyona karşı korunmak da mümkündür. Bu etkiyi, içeriğindeki biyoaktif peptitler ile sağlamaktadır. PAS proteini kaynaklı biyoaktif peptitler, angiotensin dönüştürücü enzimin (ACE) inhibisyonunu sağlayarak hipertansiyona karşı koruyucu etki göstermektedir (Rehberger, 2006).

PAS, çok sayıda değerli mineralleri de içermektedir. Bu mineraller, PAS proteinlerinin fonksiyonelliğini arttırmaya yardımcı olmaktadır. PAS, tek değerli sodyum, potasyum ve klorid iyonlarını, magnezyum, sitrat ve fosfatı içermektedir (Anonim, 2001; Beucler, 2004). Ayrıca mükemmel bir kalsiyum kaynağıdır. İçeriğindeki kalsiyum, magnezyum ve fosfor gibi mineraller ile her yaşta kemik gelişimi ve korunmasını da destekleyerek, çoğunlukla kadınlarda görülen osteoporoz oluşumunu ve kilo kontrolünü sağlayarak obezite gelişimini engellemektedir (Lucas, 1999; German ve ark., 2001; Marshall, 2004). İçeriğindeki kalsiyum, egzersiz sırasında vücutta oluşan stresi azaltmanın yanı sıra, hem menopoza sonrasındaki

bayanlarda hem de bayan sporculardaki kemikleri korumakta ve kemik yoğunluğu kaybını önlemektedir (Pasin ve Miller, 2000; Beucler, 2004).

2.8. Peyniraltı Suyu İçecekleri

PAS gıda endüstrisinde farklı şekillerde kullanılabilir. Fakat çoğunlukla peyniraltı suyu tozu haline getirilmekte ya da laktoz ve protein izolatları üretiminde kullanılmaktadır. PAS'tan içecek üretme işlemleri 1970'li yıllarda başlamıştır ve en eski PAS içeceği İsviçre'de üretilmiş olan *Rivella*'dır. Günümüze kadar, peyniraltı suyu tozundan, fermente peyniraltı suyundan, proteinlerinden arındırılmış peyniraltı suyundan, tatlı veya asit peyniraltı sularından farklı içecekler geliştirilmiştir. Alkolsüz PAS içeceklerinin yanı sıra ayrıca düşük alkol içerikli (% 1.5'dan daha az alkollü) PAS birası ve şarabı gibi alkollü PAS içecekleri de mevcuttur (Jelicic ve ark., 2008).

PAS içeceği üretim prosesinde çeşitli zorluklar mevcuttur. Öncelikle, yüksek su içeriği sebebiyle mikrobiyal bozulmalar için oldukça uygun bir ortamdır. Bu nedenle PAS kullanılarak üretilen ürünlerde ısı uygulaması gerekmektedir. Diğer taraftan, PAS proteinleri ısıya karşı hassastır ve ısı işlem esnasında 60 °C üzerindeki sıcaklıklarda denatüre olmaya başlarlar. Buna bağlı olarak PAS temelli içeceklerde sedimentasyon oluşumu hız kazanmakta ve dolayısıyla kalite kaybı meydana gelmektedir. Bu nedenle, ısı işlem yerine uygulanabilecek ultrason veya mikrofiltrasyon gibi alternatif uygulamalara yönelik çalışmalar yapılmıştır (Režek-Jambrak ve ark., 2008; Jelicic ve ark., 2008).

2.8.1. Alkolsüz Peyniraltı Suyu İçecekleri

Son yıllarda, çeşitli oranlarda meyve konsantresi ilaveli (%5-20) PAS içecekleri üretimi hız kazanmıştır. Bu meyvelerin, içeceklerdeki istenmeyen pişmiş süt kokusunu ve taze peynir altı suyunun tuzlu-ekşi tadını maskelemekte çok etkili olduğu kanıtlandığından beri narenciye aromalı içecekler ve mango, muz veya papaya gibi diğer tropikal meyveler ilave edilmiş içeceklerin tüketimi popülerite kazanmıştır (Djuric ve ark., 2004; Jelcic ve ark., 2008).

Bazı bilim adamları çeşitli meyvelerin yanı sıra çikolata, vanilya, tahıllar (çoğunlukla pirinç, yulaf ve arpa), bal gibi diğer tatlandırıcıları da ekleyerek denemelerde bulunmuşlardır. Tahıl ilavesi, özellikle de kepeğin ilavesi çok ilginç görülmektedir ve hipoalerjenik proteinler ile güçlendirilmiş bir içecek olduğundan ötürü alerjenik çocuklar tarafından tüketim için de uygundur (Girsh, 2001, Jelcic ve ark., 2008). Diyetetik içecekler, hidrolize laktoz içeren içecekler, süt benzeri toz içecekler de alkolsüz PAS içeceklerine dahildir. PAS, bileşimi nedeniyle bazı tatlandırıcı madde (çoğunlukla sakarin ve siklamat), elma veya bazı tropikal meyve ilave edilmiş diyetetik içeceklerin üretimi için oldukça iyi bir maddedir (Jelcic ve ark., 2008).

Avrupa'da özellikle Almanya marketlerinde yaygın olarak yer alan alkolsüz PAS içeceklerinden bazıları, elma ve narenciye özlü *Frusighurt*, E vitamini ile zenginleştirilmiş aromalı *Big M*, mango ekstraktı ve bifidobakteri ilaveli *MangoMolke-Mix*, siyah frenk üzümü ekstraktı veya 10 farklı meyvenin (portakal, ananas, kayısı, elma, muz, egzotik meyveler, mango, erik, narenciye) karışımından %25 oranında içeren *Frucht-Molke*, hidrolize laktozlu ve meyve (mango, karışık egzotik meyveler) ilaveli *Hedelmatarha*'dır (Jelcic ve ark., 2008).

2.8.2. Alkollü Peyniraltı Suyu İçecekleri

Düşük alkollü peyniraltı suyu içeceği üretimi, peyniraltı suyunun proteinlerinden ayrıştırılması, konsantrasyonu, laktozun fermantasyonu veya istenen alkol seviyesine (%0.5-%1) ulaşana kadar sakkaroz ilavesi, aromalandırma, tatlandırma ve ambalajlama aşamalarından oluşmaktadır. Böylelikle laktoz laktik aside dönüşerek son ürüne ferahlatıcı-ekşi bir tat kazandırmaktadır (Jelicic ve ark., 2008).

PAS birası, malt ilavesi olarak ya da malt ilavesi olmadan üretilebilmektedir. PAS birası mineraller ile zenginleştirilebildiği gibi nişasta hidrolizatları ve vitaminler içeren şekilde de üretilebilmektedir (Jelicic ve ark., 2008). PAS şarabı ise nispeten düşük oranlarda alkol (%10-11) içermekte ve çoğunlukla meyve aromaları ile tatlandırılmaktadır (Jelicic ve ark., 2008).

2.9. Fonksiyonel Gıdalar

Fonksiyonel gıdaların tanımı tartışmalı bir konudur ve hatta tüm gıdaların zaten fonksiyonel olduğu düşünüldüğünden Japonya'da bu terim ilk başlangıçta kabul edilmemiştir (Baily, 1999; Katan ve Roos, 2004). Uluslararası Gıda Bilgi Konseyi (IFIC) tarafından, fonksiyonel gıdalar "temel beslenmenin yanında sağlığa faydalar da sağlayan gıdalar" olarak tanımlanmaktadır. Amerikan Diyetetik Derneği, IFIC'ın tanımını kabul etmekte, fakat meyve ve sebzeleri, aynı zamanda az yağlı peynir, az yağlı çerez gibi sağlığa yararlı etkileri olan tüm gıdaları da bu tanıma dahil etmiştir (Thomson ve ark., 1999; Katan ve Roos, 2004). Bu tanımların hiç biri fonksiyonel gıdalar ile diğer gıdalar arasında net bir ayrım sağlayamamıştır. Çünkü,

tüm gıdalar bir şekilde vücut fonksiyonları üzerine olumlu etki sağlayabilmektedir. Bu tanımlamalara göre, çeşme suyu da fonksiyonel bir gıda olarak adlandırılabilir, çünkü su tüketimi sistit, böbrek ve mesane taşlarını önler ve muhtemelen mesane kanserini de önlemektedir (Katan ve Roos, 2004).

Fonksiyonel gıdalar için daha somut bir tanımlama ise ABD Ulusal Bilimler Akademisi Tıp Enstitüsü tarafından sağlanmıştır. Bu tanıma göre fonksiyonel gıdalar, "sağlıklı bir diyetle katkı sağlaması için gıdanın bir ya da daha çok bileşeninin konsantrasyonlarının modifiye edilmesi veya ayarlanması" şeklinde olmuştur (Committee on Opportunities in the Nutrition and Food Sciences, 1994; Katan ve Roos, 2004).

Fonksiyonel gıdalar, tüketildiğinde sağlığa belirgin şekilde yararları olan gıdalardır. Fonksiyonel gıdaların çoğu, geleneksel gıdalara bazı gıda bileşenleri ilave ederek ya da bileşimlerini modifiye ederek oluşturulmaktadır. Fonksiyonel bileşenler doğal kaynaklardan elde edilmek zorundadırlar. Bireylerin günlük diyetlerinin bir parçası olması ve tüketildiğinde sağlığa faydalı olmaları hedeflenmektedir (Smithers ve ark., 1996; Beucher, 2004).

Araştırmalar ile diyetin hastalıklarda önemli bir rol oynadığını gösteren çok sayıda bilimsel veri ortaya konmuştur. Ölüme yol açan nedenlerin %60'ına diyetin katkıda bulunduğu ve bazı kanser türlerinin %70'inin sebebi olarak diyet düşünülmektedir (Belem, 1999). Fonksiyonel gıda üretimindeki en önemli eğilimlerden birisi, tüketicilerin fonksiyonel veya sağlık düzeyini arttırıcı gıdalara, yani yalnızca sağlığa zarar verici olmayan değil aynı zamanda kalp hastalıkları, osteoporoz, kanser, diyabet vb hastalıkları önleyen gıdalara olan talepten kaynaklanmaktadır (Senorans ve ark., 2003; Mehenktaş ve Beyaz, 2004). Klinik çalışmalar, meyve, sebze, ham tahıllar, balık, düşük yağlı süt ürünlerince zengin ve

doymuş yağ açısından ise düşük oranda beslenmenin koroner kalp hastalıklarını, hipertansiyonu ve hatta belki bazı kanser türlerini azaltabildiğini göstermektedir. Buna bağlı olarak bazı insanlar diyetlerini değiştirmekte ve kalp hastalıkları risklerinin çok daha düşük bir seviyede olmasını sağlamaktadırlar (Hu ve ark., 2000; Katan ve Roos, 2004). Fonksiyonel gıdalar, sağlığı düzeltebilmekte, hastalığın başlamasını geciktirebilmekte ve hatta bazı hastalıkları tedavi edebilmektedir (Mark-Herbert, 2004). Fonksiyonel gıdalar ile ilaçlar arasında ince bir çizgi vardır. Bu tarz gıdaların üreticileri, gıdaların etiketlerinde asılsız iddialara neden olmaması için dikkatli olmak zorundadırlar (Kneiding, 2001; Beucher, 2004).

Fonksiyonel gıdalar, nutrasötik olarak da adlandırılabilen ve genetik olarak modifiye edilmiş gıdaları da içerebilmektedir. Dünyadaki fonksiyonel gıda pazarı dinamik bir şekilde büyümeye devam etmektedir. Artan tüketici ilgisi, bu pazarın büyümesindeki başarının sebebidir. Kuzey Amerika'da tüketicilerin %93'üne varan bir kısmı, bu gıdaların hastalık risklerini azaltarak sağlığa faydalı olduklarına inanmaktadır (Champagne ve Mollgaard, 2008; Özer ve Kırmacı, 2010). Bugün tüketiciler sadece yaşam sürelerini uzatmanın yolunu değil, aynı zamanda yaşam kalitelerini de arttırmanın yollarını aramaktadırlar. Son yıllarda artan sağlık maliyetleri, insanların daha ucuz ve etkili yöntemlerle sağlıklarını korumaya yöneltmiştir, bu nedenle fonksiyonel gıdalara olan ilgi büyüktür. Popüler medya sayesinde tüketiciler sağlık ve beslenme arasındaki bağlantıların farkındadırlar. Bu nedenle fonksiyonel ürünlerin gıda endüstrisindeki başarısı, gıdaların sadece güvenilir olmasına bağlı değil, aynı zamanda yenilikçi olması ve tüketici ihtiyaçlarını karşılayarak onların memnuniyetini sağlamasına da bağlıdır (Richardson 1996; Özer ve Kırmacı, 2010). Son yirmi yılda, gıda ve içecek sektöründe öncekine göre çok daha fazla yenilik vardır. Gıda ve içecek sanayi ve teknolojinin hızla gelişmesi

sonucunda, piyasalara sunulan ürünlerin çeşitliliği de önemli ölçüde artmıştır. Fonksiyonel gıdalar, 2010 yılında 24.2 milyar dolarlık bir pazara sahip olmuştur (Leatherhead Food International, 2011). Fonksiyonel gıdalar, 2005 yılında yapılan yasal düzenleme ile Türkiye'de de üretilip tüketilmeye başlanmıştır ve son yıllarda çok fazla çeşitte fonksiyonel gıda piyasaya sürülmüştür (Tetik ve ark., 2007).

Fonksiyonel gıdalar ile ilgili ilk çalışmalar Japonya'da başlamıştır. Bu ülkede Fonksiyonel Gıda Çalışma Grubu'nun çalışmaları sonucunda hazırlanan rapor doğrultusunda FOSHU (Foods for Specified Health Use) olarak nitelendirilen gıdalar 1991 yılında onaylanmıştır ve bu gıdalar FOSHU lisansı almıştır (Savcığil, 2003; Mehenktaş ve Beyaz, 2004). Fonksiyonel içecek üretimi ise, 1997 yılında South Beach İçecek Şirketi'nin (South Beach Beverage Company) SoBe içeceklerine besleyici bileşenler eklemesi ile başlamıştır. South Beach Şirketi, çay, meyve ve süt içecekleri gibi bir dizi ürün ile fonksiyonel içecek üretiminde önde gelen firmalardan biri olmuştur. South Beach, besleyici değeri geliştirilmiş içecek üretimindeki ilk şirkettir ve bu gelişmeleri takiben 1990'lı yılların sonlarında ginseng, betakaroten gibi diğer bileşenler de gıdalara eklenmeye başlanmıştır (Rodwan, 2001; Beucher, 2004).

Geleneksel sporcu içeceklerinden enerji içecekleri, bitkisel çay ve meyve sularına kadar fonksiyonel içecek pazarı hızla büyümektedir. Bu tarzdaki ilk sporcu içeceği olan *Gatorade*, potasyum, sodyum ve şeker ile zenginleştirilmiş olup limon aroması içeren (Rodwan, 2001; Beucher, 2004), rehidrasyon sağlama amacı ile üretilmiş bir sporcu içeceği özelliği taşımaktadır (Allen ve deWees, 1997; Beucher, 2004). Sporcu içecekleri üretmek için kullanılan yirmi yediden fazla şeker, karbonhidrat ve tatlandırıcı vardır. Bunlar, maltodekstrin, glukoz polimerleri, sukroz, glukoz, bal, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve saf meyve sularını içermektedir (Allen

ve deWees,1997; Beucher, 2004). Sporcu içecekleri ayrıca suda ve diğ er sıvılarda  z nm    elektrolitleri de (sodyum, potasyum ve klorid dahil) içermektedir ve fiziksel fonksiyonlarda önemli roller oynamaktadırlar (Ault, 2002; Beucher, 2004). Enerji içecekleri ilk olarak on yıldan önce Avrupa'da tanınmış olmasına rağmen, ABD marketlerinde önemli bir paya sahiptirler. Sporcu içecekleri, içeriğindeki bileşenler ile zihinsel ve fiziksel kapasiteyi desteklemektedir (Roberts, 2002a; Beucher, 2004). Enerji içecekleri, gün geçtikçe enerji verici içeceklere yönelen tüketiciler arasında daha da popüler olmaktadır (Roberts, 2002b; Beucher, 2004).

2.9.1. Süt Bazlı Fonksiyonel Gıdalar

Fonksiyonel gıdalar arasında süt bazlı fonksiyonel gıdalar, piyasanın yaklaşık %43' n  oluşturmaktadır. Saxelin ve ark. (2003)'e göre süt ürünleri   gruba ayrılmaktadır:

1) Temel süt  r nleri: Bu kategori peynir, tereyağı, yoğurt, dondurma gibi klasik süt ürünlerini içermektedir.

2) Katma/artı değ er sağlayan  r nler: Bu kategori d          veya laktosuz ürünleri, süte aşırı duyarlı bebekler için hidrolize protein içeren antialerjik formülleri ve kalsiyum, vitaminler vb. ile zenginle tirilmi  sütleri içermektedir. Bu tarz ürünler, genellikle bazı tüketiciler grupları tarafından t ketylmektedir ve bu gıdalar oğ nlukla fonksiyonel gıda kategorisine dahil edilmemiştir. Günümüzde, mineraller ve vitaminler ile zenginle tirilen süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel gıdalar kategorisine eklenmesi tartışılmaktadır.

3) Fonksiyonel süt  r nleri: Bu gruptaki ürünlerin temel besin değ eri ötesinde, sağlığ a olan faydaları üzerinde durulmaktadır. Bu  r nler, süt bazlı veya süt bazlı

olmayan kaynaklardan meydana gelerek fonksiyonel gıda bileşenleri ile zenginleştirilmişlerdir (Saxelin ve ark., 2003; Özer ve Kırmacı, 2010).

Probiyotikler, fonksiyonel fermente süt ürünlerinin temel biyoaktif bileşenleridir ve probiyotikler ile zenginleştirilmiş ürünler hala fonksiyonel gıda sektöründe ön plandadır (Champagne, 2009; Özer ve Kırmacı, 2010). Son istatistiksel veriler, fonksiyonel gıda pazarındaki probiyotik ürünlerin payının sürekli arttığını göstermektedir. Latin Amerika'da probiyotik yoğurt pazarı, 2005 ve 2007 yılları arasında her yıl %32 büyümüştür (Crowley, 2008; Özer ve Kırmacı, 2010). Tahminlere göre, probiyotik içecek ve yoğurt satışlarındaki yıllık büyüme oranı 2006 ve 2011 yılları arasında %5 olmuştur (Anonim, 2007; Özer ve Kırmacı, 2010). 2004 yılında ABD'de, taze probiyotik süt ürünlerinin satışındaki büyüme oranı (%9-10), peynirden (%2) daha yüksek olmuştur (Fletcher, 2006; Özer ve Kırmacı, 2010). Avrupa probiyotik yiyecek ve içecek pazarının, 2014 yılına kadar 163 milyon dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Champagne, 2009; Özer ve Kırmacı, 2010).

Omega-3, fitosteroller, izoflavonlar, konjuge linoleik asit (CLA), mineral ve vitaminler içeren süt ürünleri (içecekler ve içilemeyen ürünler), fonksiyonel gıdaların gelişiminde önemli bir role sahiptir. Bugün, süt bazlı içecekler tüm dünyada satılmaktadır. Süt bazlı içeceklerin dışında, soya bazlı fonksiyonel içecekler de popülerlik kazanmaktadır (Gagada ve ark., 1999; Özer ve Kırmacı, 2010).

Fonksiyonel süt bazlı içecekler iki temel gruba ayrılmıştır:

1) Zenginleştirilmiş süt bazlı içecekler: Probiyotik, prebiyotik/lif, polifenol, peptid, sterol/stanol, mineral, vitamin ve balık yağı ile zenginleştirilmiş içecekler

2) Peyniraltı suyu bazlı içecekler: Meyve suyu tipi veya süt tipi içecekler (Özer ve Kırmacı, 2010).

2.10. Fitosteroller

Fitosteroller (bitkisel kaynaklı sterol ve stanoller), bitkilerin ikincil metabolik faaliyetleri sırasında sentezlenip depolanan, besin değeri olmayan, sağlık için yararlı etkilere sahip olan steroid yapıdaki biyoaktif bileşik grubudur. Steroller, hayvan ve bitkilerdeki hücre membranlarının temel bir bileşenidir. Sterollerin kimyasal yapıları, 3. karbondaki hidroksil, 10. ve 13. karbonlarında metil grubu bulunan bir steran halkası (siklopentanoperhidrofenantren) ve steran halkasının 17. karbonunda ise dallanmış bir yan gruptan oluşmaktadır (Ling ve Jones, 1995; Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001). Sterollerin enzimatik veya kimyasal hidrojenizasyon ile steran halkasındaki 5. ve 6. karbon arasındaki çift bağın doyurulmuş hallerine ise stanol denilmektedir (Venkatramesh ve ark., 2003).

Hayvansal bir sterol olan kolesterolde ise, 8 karbonlu bir yan grup bulunmakta iken, fitosterollerde 9 veya 10 karbonlu bir yan grup bulunmakta ve bu grupta doymamış bağ, metil ve etil gruplarının varlığı kolesterolde farklı bir özellik göstermesine neden olmaktadır (Ling ve Jones, 1995; Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001). Sterollerin birçoğu (sitosterol, kampesterol, stigmasterol) bitki hücreleri tarafından üretilmekte iken kolesterol memeli hücrelerinde bulunan bir steroldür. Bitki sterolleri kolesterole yapısal olarak benzer olsa da insan vücudu tarafından sentezlenememektedirler. Bitkisel stanollerin insan vücudundaki emilimi zayıftır (Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001). İlk tanımlanmasından bugüne kadar geçen sürede 40'tan fazla bitkisel sterol (fitosterol) tanımlanmıştır; ama beta sitosterol,

kampesterol ve stigmasterol en çok bulunanlarıdır. Bu üç farklı sterol yapısal olarak kolesterole benzemektedirler. Stanoller doymuş sterollerdir, yapılarında çift bağ bulunmamaktadır ve doğada sterollere göre daha az bulunmaktadır. Bitkisel stanoller, sterollerin hidrojenizasyonu ile üretilmektedir (Law, 2000).

2.11. Fitosterollerin Kolesterol Düşürücü Etkisi

Bitkisel sterol ve stanoller, 1950'li yıllarda kolesterol seviyesini düşürmesi ile tanınmıştır. Fitosteroller bu etkilerini, bağırsaktaki emilim esnasında kolesterol ile mücadele ederek yapmaktadırlar ve böylece bazı kanser türlerinin oluşma risklerini de azaltmaktadırlar (Best ve ark.,1954; Law, 2000). Bitkisel stanol ve sterollerin kolesterol metabolizmasına etkileri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, bitkisel stanol esterlerinin vücuttaki kolesterol emilimini ve LDL kolesterolü azalttığını kanıtlamaktadır (Normen ve ark., 2000; Hallikainen ve ark., 2000; Plat ve ark., 2005).

1950'li yıllarda, insanlarda günde 5 ile 10 g arasında bölünmüş dozlar halinde fitosterol alımının etkili olduğu rapor edilmiştir. Yakın zamanda ise bitki sterollerinin kan kolesterol düşürücü düzeylerinin biraz daha düşük dozlarda olduğu tespit edilmiştir (Lees ve ark., 1977; Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001).

Bitki stanolleri yapısal olarak kolesterol ile ilişkilidir ve bağırsak sistemindeki miseller yardımıyla insan vücuduna dahil olmaktadır. Uzun yıllar boyunca bitki stanollerinin kolesterolden daha hidrofobik olduğu ve kolesterole göre misellerle daha yüksek bir birleşme eğilimi gösterdiği farzedilmiştir. Bu nedenle bitki stanolleri misellerdeki kolesterol ile yer değiştirmektedir. Bunun sonucu olarak bağırsaklardaki kolesterolün emilimi azalmakta ve kolesterol ve metabolitlerinin vücuttan atılımı

daha fazla olmaktadır. Bu önerilen mekanizmada maksimal etkinliğe ulaşmak için bitkisel stanol esterlerinin her kolesterol içeren yemek ile birlikte tüketilmesi önerilmektedir (Plat ve ark., 2005; Mattson ve ark., 1982). Bununla birlikte, sadece öğle yemeğinde 2.5 g bitkisel stanol esteri tüketiminin sonuçları ile aynı miktarda bitkisel stanol esterinin üç öğüne bölünerek tüketilmesi sonuçları karşılaştırıldığında benzer bir LDL kolesterol düşüşü tespit edilmiştir (Plat ve ark., 2005; Plat ve ark., 2000). Bu sonuca dayanarak, bitkisel stanollerin her öğünde veya diyet ile her kolesterol alımı ile eş zamanlı tüketilmesi gerekmediği anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda, bitkisel stanol esterlerinin günde bir kez tüketimi ile LDL kolesterol seviyesini etkili bir şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir. Dolayısıyla bitkisel stanol/sterollerin enterositlere girdiğini, böylece bağırsak lipoprotein metabolizmasını etkilediği kabul edilmiştir. Bitkisel stanoller bağırsak siteminden kolayca eritrositlerin içine taşınabilmektedir (Plat ve ark., 2005; Igel ve ark., 2003). Kolesterolün aksine bitkisel stanol/steroller şilomikronlardan absorpsiyon aracılığı ile minimal düzeyde dolaşıma katılmaktadır. Şilomikronlar üzerine etkili olarak katılması için, sterol ve stanollerin öncelikle esterlenmiş halde olmalıdırlar (Field ve Mathur, 1983; Plat ve ark., 2005).

Yapılan diğer çalışmalarda, fitosterollerin etkin dozu araştırılmıştır. Günde yaklaşık 2 gram bitkisel sterol/stanol alımında, LDL- kolesterol konsantrasyondaki azalma 50-59 yaş arasındaki bireylerde en az 0.5 mmol/L, 40-49 yaş arasındaki bireylerde ise en az 0.4 mmol/L olmuştur (Law, 2000). Çalışmaların çoğunda, günde 2 g sterol esteri tüketiminin LDL kolesterol düzeyinde %9-20 arasında bir azalma sağladığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda hem doymamış (sterol ester) hem de doymuş (stanol ester) bitki sterolleri kullanılmıştır (Blomqvist ve ark., 1993;

Weststrate ve Meijer, 1998; Hallikainen ve ark., 2000; Blair ve ark., 2000; Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001).

2.12. Fitosterollerin Güvenilirliği

Birçok hayvan ve canlı hücre ile yapılan çalışmanın sonucunda fitosterollerin herhangi bir yan etkisi görülmemiştir. Böylece, fitosteroller etkili ve güvenli bir kolesterol düşürücü fonksiyonel gıda maddesi olarak nitelendirilmiştir. Bitkisel stanol esterleri ile zenginleştirilmiş margarinler, 1995 yılından bu yana Finlandiya pazarında mevcuttur ve herhangi bir yan etki rapor edilmemiştir (Plat ve ark., 2005). Bitkisel stanol ve steroller margarinlerde tada ve yapıya olumsuz bir etki göstermemektedir ve margarinlerde kullanılmaktadır (örn; Benecol) (Niinikoski ve ark., 1997; Law, 2000).

Diğer bir yandan bitkisel sterol ve stanoller hakkındaki en önemli endişe ise, kısa süreli ya da uzun süreli stanol/sterol esteri tüketiminin bazı yağda çözünen vitaminlerin absorpsiyonunu azaltmaları hakkındaki görüşten kaynaklanmaktadır. Çalışmalar sonucunda, bitkisel sterol ve stanoller, β -karotenin kandaki konsantrasyonlarını yaklaşık %25 oranında, α -karotenin konsantrasyonunu %10 oranında, E vitamini konsantrasyonunu ise %8 civarında azalttığı tespit edilmiştir. Çünkü, bu vitaminler LDL kolesterolü oksidasyondan korumaktadır. Stanol ve steroller LDL miktarını azaltmaktadır ve bu vitaminlerin kandaki konsantrasyonlarındaki değişimler LDL kolesterolünün düşük konsantrasyonuna göre ayarlanabilmektedir. Bu ayarlama ile E vitamini konsantrasyonu azalmazken β -karoten konsantrasyonu %8-19 arasında azalabilmektedir (Weststrate ve Meijer, 1998; Hendriks ve ark., 1999; Gylling ve Miettinen, 1999; Hallikainen ve ark., 1999;

Law, 2000). D vitamini konsantrasyonu ise etkilenmemektedir (Law, 2000; Hendriks ve ark., 1999; Gylling ve Miettinen, 1999). Araştırmacılar bu konunun daha ayrıntılı bir şekilde gözlenmesi gerekmektedir (Lichtenstein ve Deckelbaum, 2001).

2.13. Probiyotikler

Probiyotik kelimesi Yunanca “yaşam için” anlamına gelmektedir. İlk kez Lily ve Stillwell tarafından 1965 yılında, bir mikroorganizma tarafından sentezlenen, bir diğer mikroorganizmanın gelişimini teşvik eden bir maddeyi tanımlamak için kullanılmıştır. Fuller 1989'da probiyotikleri “konakçının yararına olacak şekilde bağırsak mikroflorasının gelişimini teşvik eden canlı mikrobiyal besin katkısı” olarak tanımlamıştır. Probiyotik etki için, hücrelerin canlı varlığının önemi özellikle vurgulanmaktadır. İlerleyen yıllarda bu tanım genişletilerek “içerdiği yeterli sayıda canlı, tanımlanmış mikroorganizma ile vücutta sindirim sisteminde bulunarak sağlık üzerine faydalı etkiler sağlayan canlı mikrobiyal gıda katkısı” olarak tanımlanmıştır (Sullivan ve Nord, 2002; Ziemer ve Gibson, 1998; Roberfroid, 2000; Sanders, 1998; Klaenhammer, 2000). Araştırmacılar tarafından probiyotikler, insan ya da hayvan tarafından alınan canlı tek veya karışık mikroorganizma kültürleri olarak tanımlanmaktadır (Fuller, 1989; Sullivan ve Nord, 2002; Kaur ve ark., 2002).

Probiyotik ürünler, tüketicinin sağlığı üzerine olumlu etkileri olan mikroorganizmaları canlı halde içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Shah, 2001). Probiyotiklerin, tüketilinceye kadar üründeki canlılık ve aktivitelerini koruması gerekmektedir. Bir probiyotik gıdanın terapatik etki gösterebilmesi için tüketim anında içermesi gereken minimum probiyotik bakteri sayısı en az 10^6 - 10^7 kob/mL ya

da kob/g'dır (IDF, 1992). Probiyotiklerin en iyi bilinenleri laktik asit bakterileridir. Probiyotik özelliğe sahip laktik asit bakterileri genellikle *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve bifidobakter suşlarıdır (Krishnakumar ve Gordon, 2001). Bu mikroorganizmalar depolama boyunca üründe canlılığını koruduğu ve tüketim sonrası insanların metabolizmasında yer aldığı ölçüde yararı artmaktadır. Probiyotiklerin bağırsaktaki koruyucu etkisinin devam edebilmesi için, probiyotik mikroorganizma içeren fermente ürünler ve kapsüller düzenli tüketilmelidir. Çünkü bağırsaktaki kolonizasyon geçicidir (Yılsay ve Kurdal, 2000; Akalın ve ark., 2000; Önal ve ark., 2005).

Süt endüstrisinin probiyotikleri ise fermente süt ürünleridir. Bu ürünlerde en çok kullanılan probiyotik mikroorganizmalar laktobasillerin ve bifidobakterilerin seçilmiş suşlarıdır (Özer ve Akın, 2000; Fuller, 1989; Önal ve ark., 2005). Fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılan laktik asit bakterileri insanların sindirim sisteminde canlı kalamadıkları için, yoğurt ve diğer fermente ürünlere *L. acidophilus* ve bifidobakteriler gibi probiyotik bakteriler ilave edilmeye başlanmıştır (Kalantzopoulos, 1997; Vaughan ve Mollet, 1999). Günümüzde dünyada çok sayıda *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. içeren; yoğurt, yayıkaltı, ekşi krema, süttozu ve dondurulmuş tatlılar vb. ürünler bulunmaktadır (Shah, 2001).

2.14. Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Probiyotikler, canlıyı patojen bakterilere karşı koruyarak ve canlının bağışıklık sistemini güçlendirerek etki göstermektedirler. Probiyotikler, insan bağırsağındaki patojen bakterilerin çoğalmasını engelleyerek bağırsak rahatsızlıklarını gidermede etkili olan birçok mekanizmayı harekete geçirmektedir

(Rolfe, 2000). Probiyotik suşlar ürettikleri organik asit, bakteriyosin ve hidrojen peroksit gibi maddeler sayesinde antibakteriyal özellik göstermektedirler. Probiyotik bakterilerin sindirim sisteminde patojen mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturarak, bu mikroorganizmaların epitel hücrelere bağlanma derecesini azalttığı düşünülmektedir (Ouwehand ve ark., 1999). Probiyotiklerin sağlığa olumlu etkilerini gösterebilmeleri için bireylerin bağırsaklarında kolonize olmaları gerekmektedir. Günümüzde çok sayıda hastalığın tedavisinde ve hastalıklardan korunmada artan bir oranda probiyotik kullanımı söz konusudur (Wallace, 2009). Probiyotikler, allerjik hastalıklar (astım, allerjik rinit vs), rotavirüs'e bağlı diyare, ülserle sebep olan *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun tedavisi ve önlenmesinde; diyabet başlama yaşını geciktirmekte, laktoz intoleransı semptomlarını hafifletmekte, irritabl bağırsak semptomlarını, sindirim yolu enfeksiyonlarını ve kolon kanserini engellemede etkilidirler (Bengmark ve ark., 2001; Reid ve ark., 2003).

Probiyotiklerin ayrıca plazma lipid düzeylerini düşürebildiği ve hiperkolesterolemi riskinden koruyabildiği de öne sürülmüştür (Larkin ve ark., 2009). Probiyotik bakteriler ile fermente edilmiş süt ürünlerinin kan lipidleri üzerine olan etkileri ile ilgili ilk kayıt, yaklaşık 30 yıl öncelere dayanmaktadır. Günümüze kadar bu konu ile ilgili çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışma yapılmıştır. Özellikle belirli *Lactobacillus* spp. veya *Bifidobacterium* spp. türlerini içeren probiyotik ürünlerin tüketimi ile kandaki yüksek kolesterol seviyelerinin azaltılabildiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla probiyotiklerin bu alanda kullanımına karşı olan ilgi ve çalışmalar artarak devam etmektedir (Pereira ve Gibson, 2002; Tok ve Aslım, 2007).

Yapılan bir çalışmada, probiyotik bakteriler içeren yoğurt (fermente süt) tüketiminin hiperkolesterolemik kişilerdeki serum kolesterol seviyesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla hiperkolesterolemik kişiler, 3 hafta boyunca *L. acidophilus*

L1 veya *L. acidophilus* ATCC 43211 suşlarını içeren yoğurtların birinden her gün 200 mL tüketmişlerdir. Hiperkolesterolemik kişilerin günde 200 mL *L. acidophilus* içeren yoğurt tükettiklerinde, kolesterol düzeylerinin %2.4 ile %3.2 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Kolesterol seviyesindeki her %1'lik azalmanın kalp hastalıkları riskini %2-3 azalttığı düşünüldüğünde, bu kişilerin kalp hastalıkları risklerinin %6 ile %10 oranında azaldığı bildirilmiştir (Anderson ve Gilliland, 1999).

BÖLÜM 3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Peyniraltı suyu

Araştırmada İkizler Süt İşletmesi (Bolu) tarafından sağlanan taze peyniraltı suyu kullanılmıştır. Peyniraltı suyu cendere bezinden süzildükten sonra buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiş ve aynı gün içerisinde kullanılmıştır.

3.1.2. Starter kültürler

Lactobacillus acidophilus La-5 Peyma-Chr. Hansen A.Ş. (Gayrettepe, İstanbul), *Lactobacillus casei* LBC-81 ise Rhodia (Rhodia UK Ltd., Oak House Reeds Crescent, Hertfordshire, UK) firmalarından ticari olarak liyofilize formda sağlanmıştır. Liyofilize formda alınan kültürler steril Laktoz Broth'a aktarılarak 35°C'de 12 saat süresince aktifleştirilmiştir. Aktive edilen kültürler aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceğine inoküle edilmiştir.

3.1.3. Fonksiyonel bileşenler

Araştırmada kullanılan bitkisel stanol (Vegapure® F 40 WDP E, Raisio, Finland) Dimes Gıda San ve Tic A.Ş. (Tokat) firmasından sağlanmıştır. Bitkisel

stanol, stanol ve gum arabik (E414) içermekte olup, toplam sterol içeriği %40, su içeriği < %5 ve yoğunluğu 0.3-0.5 g/mL'dir.

3.1.4. Yüksek hidrostatik basınç ünitesi

Araştırmada, 2 L hacminde basınç odasına sahip pilot ölçekli yüksek hidrostatik basınç sistemi kullanılmıştır (Avure Technologies, Columbus, OH, ABD). Kullanılan yüksek basınç sisteminde basınç haznesinde basınç ileten sıvı olarak destile su kullanılmıştır. Proses sırasında basınç haznesinin sıcaklığı K tipi termokupllar vasıtasıyla ölçülmüştür. Proses oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir ve proses sırasında örneklerin sıcaklığının 25-34 °C'ler arasında olduğu gözlenmiştir. Proses sırasında sıcaklık artışı soğutma suyu vasıtasıyla kontrol altında tutulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Aromalı peyniraltı suyu içeceği üretimi

Aromalı peyniraltı suyu içeceği üretimi için ilk olarak ön denemeler yapılmış ve bu ön denemelerde ilk aşamada stabilizatör seçimi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan stabilizatör miktarı daha önce yapılan çalışmalar sonrası belirlenmiş olduğundan dolayı stabilizatörlerin farklı konsantrasyonları test edilmemiştir (Seyhan, 2012a). Denemeler sonunda stabilizatör olarak Mukatti marka (Benosen Gıda Sanayi Kimya ve Dış Tic. Ltd. Şti., İstanbul) ticari karışık stabilizatör kullanılmıştır. Stabilizatörün içeriği ticari sır kapsamında olduğundan mukatti marka stabilizatör karışımının içeriği tam olarak bilinmemektedir. Peyniraltı suyu ilk olarak 50 °C'ye kadar

ısıtılmış ve %0.7 (w/v) oranında stabilizatör eklendikten sonra blender yardımı ile homojenize edilmiştir. Ardından, örnekler 4 °C' de bir gün boyu depolanmış ve sedimentasyon olup olmadığı görsel olarak incelenmiştir. Sedimentasyonun en az olduğu örnekteki stabilizatörün kullanılmasına karar verilmiştir. Peyniraltı suyu içeceği üretiminde nutrasötik bileşen olarak ise bitkisel stanol kullanılmıştır. Ön denemeler sırasında eşit miktardaki peyniraltı sularına %0.25, %0.5 ve %1.0 stanol ilavesi yapılmıştır. Ön denemeler sonucunda stanol konsantrasyonu %0.0 ve %1.00 (w/v) olarak belirlenmiştir.

Aromalı peyniraltı suyu içeceği üretimi için, peyniraltı suyuna uygun şartlarda ve oranda (%0.0 veya %1.0) stanol ilavesinden sonra, %0.7 (w/v) oranında stabilizatör ilave edilmiştir. Her pakette belirli miktarda peyniraltı suyu içeceği olacak şekilde, örnekler yüksek bariyerli plastik ambalaj materyaline konularak önce ısı ile kapatılmıştır. Ardından ısı ile kapatılan ambalaj tekrar ikinci bir plastik ambalaj içerisine yerleştirilerek yaklaşık -90 kPa vakum altında paketlenmiştir. Üretilen peyniraltı suyu içeceği, ısı ile pastörize ve yüksek hidrostatik basınçla pastörizasyon için 2 farklı gruba ayrılmış ve örnekler 4 °C'de depolanmıştır.

Duyusal analiz için hazırlanan örnekler dışındaki test numunelerine aroma, renk maddesi ve şeker ilave edilmemiştir. Duyusal analiz için hazırlanan örneklerde ilk aşamada aroma çeşidi ve miktarı, şeker miktarı ve renk maddesi miktarı denenmiştir. Bu amaçla armut, kayısı, şeftali, limon, vişne ve kavun aromaları denenmiş, fakat bu aromalar beğenilmediği için ikinci aşamada muz, çikolata ve çilek aromaları ve oleoresin (sarı renkli-muz aroması için), karamelize şeker (kahverengi-çikolata aroması için) ve pancarkökü kırmızısı (pembe renkte-çilek aroması için) renk maddeleri farklı oranlarda eklenmiştir (Aromsa A.Ş., Gebze Kocaeli). Yapılan ön duyusal değerlendirmelerde en çok çilek aroması, en az ise

Çikolata aroması beğenilmiş, dolayısıyla ilek aroması kullanılarak ürünün son formülasyonu belirlenmiştir. Buna göre 100 mL peyniraltı suyu ieeği için 75 L ilek aroması, 20 L pancar kökü kırmızısı, 3 gr şeker eklenmesi uygun bulunmuştur. Benzer şekilde ilek aroması kullanılarak üretilen içecekler ısı ile pastörize ve yüksek hidrostatik basınçla pastörize edilmek üzere iki gruba ayrılmıştır.

3.2.2. Aromalı peyniraltı suyu ieeğinin prosesi

Paketlenmiş olan peyniraltı suyu içeceklerine farklı uygulamalar yapılmıştır. Birinci grup örnekler plastik ambalaj materyaline konulduktan sonra ambalaj ısı ile kapatılıp vakum paketlenmiş olup yüksek hidrostatik basınçla (YHB) proses edilmiş ve bu amaçla 200 MPa’da 5 dk, 400 MPa’da 5 dk ve 600 MPa’da 5 dk basınç uygulamaları yapılmıştır. Yüksek basınç prosesinde 2 L kapasiteli basınç odasına sahip pilot ölçekli yüksek hidrostatik basınç sistemi kullanılmıştır. Proses sonrasında örnekler inoküle edilmiş ve inokülasyondan sonra analiz ve raf ömrü çalışmaları için 4 C’de depolanmışlardır.

İkinci grup örnekler ise aynı şekilde pakatlendikten sonra, ısı ile pastörizasyon amacıyla 85 C’de 15 dk ısıl işleme tabi tutulmuştur. Bu amaçla 85 C’ye ısıtılmış olan çalkalamalı su banyosunda, örnekler iç sıcaklığı 85 C’ye gelene kadar bekletilmiş ve örnekler toplam olarak 85 C’de 19 dk işlem görmüştür. Isıl işlem prosesi sonrasında örnekler inoküle edilmiş ve inokülasyondan sonra 4 C’de depolanmıştır.

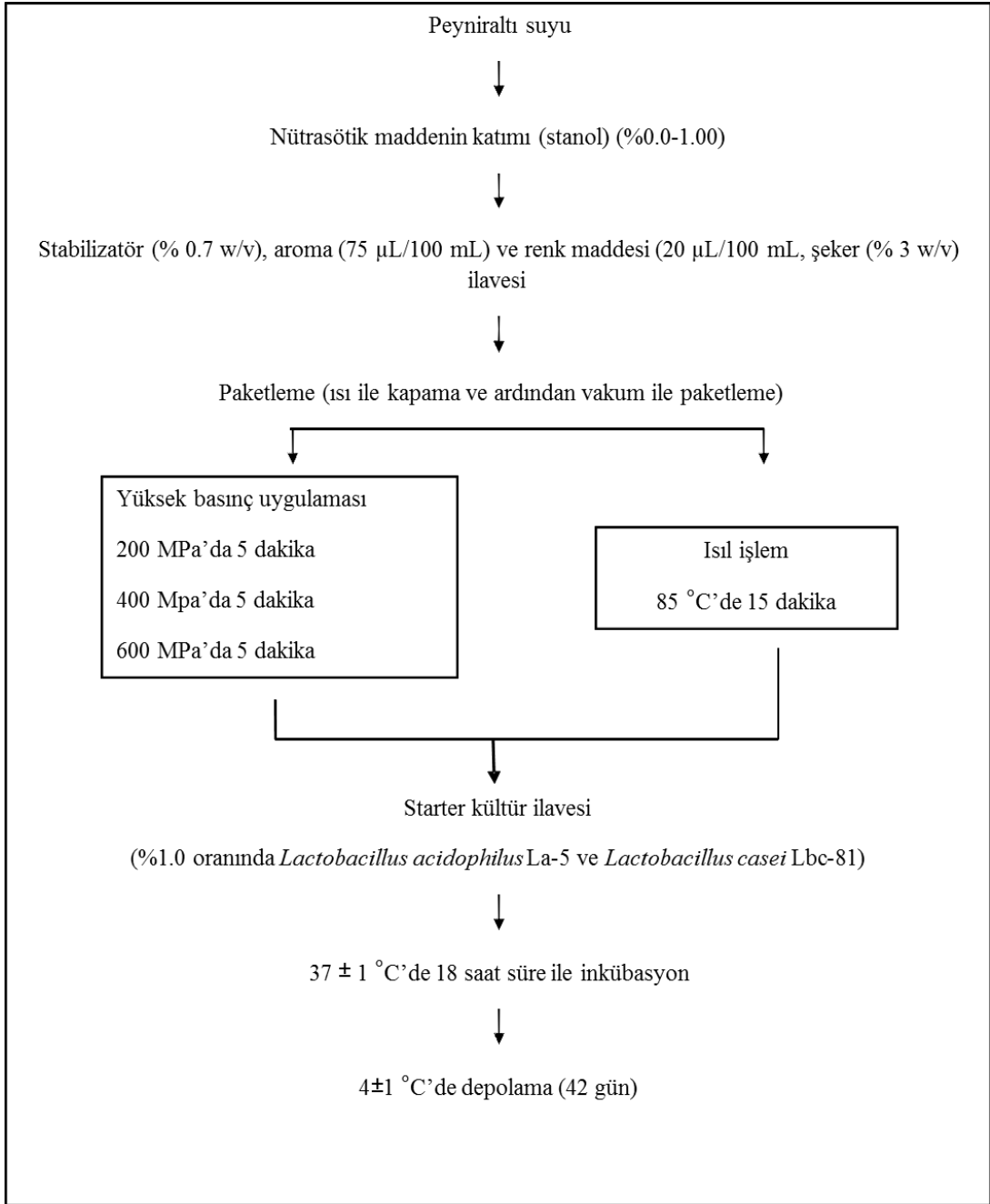
3.2.3. Örneklerin inokülasyonu

YHB veya ısıtıl işlem uygulanan örnekler 37 °C’de inkübasyon sıcaklığına gelene kadar bekletilmiş ve tüm örnekler %1 (v/v) oranında probiyotik bakteri (*Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Lactobacillus casei* Lbc-81) inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon öncesinde Laktoz Broth’ta ayrı ayrı geliştirilen bakteriler 400 rpm de 5 dk santrifüj edilerek (Hettich Rotanta 460R, Tutlingen, Almanya) pellet ayrılmıştır. Ayrılan pellet ¼ kuvvetinde Ringer çözeltisi içerisinde süspanse edilmiş ve her bir bakteriden %0.5 olacak şekilde toplam %1 (v/v) oranında inokülasyon gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon sonrasında tüm peyniraltı suyu içecekleri 4 °C’de buzdolabı koşullarında 42 gün boyunca depolanmış ve ürünün raf ömrü bilinemediğinden dolayı depolama süresince 7 gün aralıklarla 0, 7, 14, 21, 28, 35 ve 42. günlerde belirlenen analizler yapılmıştır. Üretim akış şeması Şekil 3.1’de verilmektedir.

3.2.4. Mikrobiyolojik analizler

Probiyotik bakterilerin sayımında dökme agar yöntemi kullanılmıştır. Seri dilüsyonların hazırlanmasında %0.1 pepton çözeltisinden (Fluka, Almanya) yararlanılmıştır. *L. acidophilus* ve *L.casei* sayımında Sorbitol MRS ve BCG-Trehalose MRS agar besiyeri kullanılmıştır (Locascio ve ark., 2004). Sorbitol MRS agar besiyeri için sorbitol ekleme oranı %10 (v/v) olarak belirlenmiştir. BCG-Trehalose-MRS agar bileşiminde ise 10 g/L pepton, 8 g/L meat ekstraktı, 0.4 g/L yeast ekstraktı, 20 g/L trehalose, 2 g/L dipotasyum hidrojen fosfat, 1 mL/L Tween

80, 2 g/L triamonik sitrat, 5 g/L soydum asetat, 3 H₂O, 0.1 g/L magnezyum sülfat, 7 H₂O, 0.05 g/L magnezyum sülfat, 4 H₂O, 15 g/L agar (pH 6.8) bulunmaktadır.



Şekil 3.1. Aromalı fonksiyonel peynir altı suyu içeceği üretim akış şeması

Trehalose çözeltisi (% 40, w/v) membran filtrasyonuna tabi tutulmuştur ve katım oranı %2 olarak belirlenmiştir. Boyama çözeltisi; bromkrezol yeşilinin (BCG)

(0.06 g) 15 ml NaOH içerisinde çözündürülmesi ile hazırlanmıştır (0.01 M son konsantrasyon). Boyama çözeltisi de membran filtrasyonuna tabi tutulmuştur ve 2 mL çözelti 100 mL agar üzerine aktarılmıştır.

BCG varlığında renkli halo oluşturarak zon meydana getiren koloniler *L. casei*; sorbitol varlığında gelişen koloniler ise *L. acidophilus* olarak tanımlanmıştır. İnkübasyon sıcaklığı ve süresi 37 °C'de 72 saat olarak belirlenmiştir. Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

3.2.5. Fiziksel ve kimyasal analizler

3.2.5.1. pH

Homojen olarak alınan 20 mL peyniraltı suyu içeceği örneklerinin pH değerleri Orion 420 A model pH metre (Inolab WTW, Almanya) ile ölçülmüştür.

3.2.5.2. Su aktivitesi

Peyniraltı suyu içeceği örneklerinin su aktivitesi (Novasina marka, Lachen, Switzerland) ölçülmüştür. Cihaz öncelikle %75 'lik standart ile kalibre edilmiştir. Kalibrasyon bittikten sonra örnek cihaza özel örnek kabına konulmuş ve ardından cihazın haznesine yerleştirilerek ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.3. Titrasyon asitliği

Homojen olarak alınan 5 mL peyniraltı suyu içeceği örneği üzerine 2-3 damla fenolftalein indikatörü eklendikten sonra 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan NaOH miktarları kaydedilmiş ve sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Asitlik (Laktik asit olarak)} = V \times N \times f \times 0.090 \times 100 / m$$

V: Titrasyonda harcanan NaOH çözeltisi, mL

m: Titrasyonda kullanılan deney numunesi miktarı, g

N: NaOH'ın normalitesi

f: 0.1 N NaOH'ın faktörü

0.090: Laktik asidin milieşdeğer gramı

3.2.5.4. Renk

Renk ölçümü Hunter Lab Color Flex Spektrofotometresi (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, ABD) kullanılarak yapılmış olup; sonuçlar CSI sisteminde L* (0: koyuluk, 100: açıklık), a* (-: yeşillik, +: kırmızılık) ve b* (-: mavilik, +: sarılık) değerleri olarak verilmiştir. Peynir altı suyu içeceği örnekleri için Chroma (C*) ve hue (h°) değerleri, $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ve $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ eşitlikleri kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca kontrol ve işlem görmüş örnekler arasındaki toplam renk değişimi ($\Delta E = \sqrt{(L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2}$) belirlenmiştir. L₀, a₀ ve b₀ değerleri kontrol (0. gün) örneklerinin; L, a ve b değerleri ise işlem görmüş örneklerin renk değerleridir.

3.2.5.5. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (Fourier transform infrared spectroscopy- FTIR)

Peyniraltı suyu içeceği örnekleri ATR attachmanı bulunan Shimadzu marka (IR Prestij FT-IR 21 Model, Tokyo Japonya) fourier transform infrared spektroskopisi (FT-IR) ile ölçülmüştür. Ölçümde alınan 10 µL örnekler direkt olarak ATR attachmanına yerleştirilerek 400-3000 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. FT-IR'da ilk olarak örnek olmadan hazne kapatılarak boş bir şekilde background taraması yapılmaktadır. Ardından, örnek cihazın haznesine konulup analiz başlatılmaktadır.

Absorbans ölçüm parametreleri aşağıdaki gibidir:

Apodization modu: Happ-Genzel

Tarama sayısı: 120/sn

Dalga boyu aralığı: 650-4000 nm

Kızılötesi (IR) absorpsiyon spektroskopisi bir tür titreşim spektroskopisidir. IR ışınları molekülün titreşim hareketleri tarafından soğurulmaktadır. Işıma şiddeti, zamanın bir fonksiyonu olarak alınır. Her dalga boyunu ayrı ayrı tarama gerekmeksizin hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edilebilmektedir. Bu yöntem ile, moleküler bağ karakterizasyonu yapılarak; katı, sıvı, gaz veya çözelti halindeki organik bileşiklerin yapısındaki fonksiyonel gruplar, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı belirlenebilir. Ayrıca biyokimyasal olarak; karbonhidrat, fosfolipit, aminoasit ve proteinlerin yapı analizlerinde belirleyicidir.

Işık, kaynağından ayrıldıktan sonra bir ışın ayırıcıya gelir. Burada ışın hem sabit aynaya hem de hareketli aynaya gönderilir. Daha sonra ışınlar aynadan

yansıyarak ışın ayırıcıya geri gelir. Buradan da örneğin bulunduğu yere gider. Örnek ile etkileşen ışın heterokromatik yapıdadır. IR spektroskopisinde monokromatörden geçirilen bu ışın tek dalga boyuna indirilir, yani ışın monokromatik yapıdadır. Işın örnek ile etkileştikten sonra algılayıcılar tarafından algılanır ve bilgisayar ile ölçülebilecek anlamlı sinyallere dönüştürülür. Infrared spektroskopisi ile gaz, sıvı ve katı örneklerin moleküler bağ yapısı incelenebilir (Anonim, 2013).

3.2.5.6. Reolojik analizler

Reoloji, maddenin akışını ve deformasyonunu inceleyen bir bilim dalıdır. Gıdaların ve gıdaların içeriklerini oluşturan katkıların reolojik özellikleri, gıdanın formülasyonun hazırlanmasında ve üretimin her aşamasında önemlidir. Proses, paketlenme ya da muhafaza sırasında hammaddeler ve katkıları mekanik strese maruz kalıp deformasyona uğrarlar. Gıda maddelerinin reolojik davranışlarının bilinmesi uygulanacak prosesler için gereklidir. Bir gıda maddesinin şekli, kıvamı, dokusu, esnekliği gibi özellikler (reolojik özellikler) o gıdanın duyular tarafından algılanmasını sağlar ve bu da ürünün kalitesini belirler. Dolayısıyla reolojik ölçümler işlemlerde giren ve çıkan ürünleri kontrol etmek, işlem-hammadde arasındaki ilişkiyi araştırmak ve son ürün yapısını incelemek için gereklidir. Gıda ürünlerinin akışkan davranışlarını belirlemek için reometreler kullanılmaktadır.

Araştırma sürecinde örneklerin reolojik analizinde, Malvern Kinexus Reometre Cihazı (Worcestershire, İngiltere) kullanılmıştır. Cihaza, öncelikle analiz edilecek örneğimize uygun olan başlık (CP2/60S0205SS) ve taban (PL65S0550SS) takılmıştır. Örnekten 2 mL kadar cihaza konulduktan sonra analiz için uygun olan program seçilmiştir (Toolkit V001 Table of Shear Rates ve Toolkit O002 Frequency

Table). Reometre ölçümlerinde shear stress ve shear rate ölçümlerinde başlangıç ve son shear rate aralıkları 0.01-100 Hz olup her 10 Hz aralığında ölçüm yapılmıştır. Frekans taramasında başlangıç ve bitiş frekansları 0.01-100 Hz, shear strain ise 10 olarak seçilmiştir. Her örnek için her iki farklı analiz de yapılmıştır. Seçilen ölçüm değer aralıklarına bağlı olarak her bir analiz ortalama 40 dakika sürmüştür.

3.2.5.7. Zeta potansiyeli ve kondaktivite ölçümü

Peyniraltı suyu içeceği örneklerinin zeta potansiyeli Laser Doppler Micro-Electrophoresis teknolojisi kullanılarak Zetasizer Nano Z cihazı (Worcestershire, İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin kondaktivite değeri 8'in üzerinde olduğundan, ölçüm yapılabilmesi için örnekler 2 mL örnek 2 mL saf su olacak şekilde seyreltilmişlerdir. Seyreltilmiş örnekler hava kabarcığı olmayacak şekilde zetasizer küvetlerine yerleştirildikten sonra direk olarak cihazda ölçüm yapılmıştır.

Zeta potansiyeli partikülün yüzeyi üzerindeki net etkili yüküdür. Zetametre ile ölçülür ve birimi milivolttur. Zeta potansiyeli, koloidal dağılımların stabilitesinin değerlendirilmesinde önemlidir. Ne kadar yüksek olursa, koloidal dağılımların stabilitesi de o kadar iyidir. Emülsiyonlarda genellikle $\pm 30-50$ mV olması istenir (Nash, 1988). Emülsiyonların stabilitelerinde emülsifiye olan damlacıkların yüzey yük ve zeta potansiyellerinin ölçülmesi önemli bir göstergedir; çünkü elektrostatik itme kuvvetinin flokülasyonun (çökelme) önlenmesine önemli katkısı bulunmaktadır. Partiküller arasındaki elektriksel yükler flokülasyon hızını etkiler. Bu nedenle zeta potansiyel flokülasyonun değerlendirilmesinde önemlidir (Rieger, 1986).

3.2.5.8. Partikül büyüklüğü ölçümü

Örneklerin partikül büyüklüğü ölçümü Mastersizer 2000 (Worcestershire, İngiltere) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz Laser light scattering prensibine göre çalışmakta olup, 1 kHz data ölçüm aralığında Mie and Fraunhofer scattering prensibine göre analiz yapılmıştır. Kırmızı ışık kaynağı maksimum 4mW He-Ne, 632.8nm, mavi ışık kaynağı maksimum. 0.3mW LED, 470nm ve lens ayarlaması reverse Fourier (convergent beam) olarak ayarlanmıştır. Örneklerin analizi sırasında ultrasonikasyon 2000 Hz ve pompa karıştırma oranı 2000 rpm olarak ayarlanmıştır.

3.2.5.9. Endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS)

Örneklerdeki toplam çözünmüş katı madde miktarı %0.1'in, organik madde içeriği de %2'nin altında olmalıdır. Bu nedenle, peyniraltı suyu içeceği örnekleri analiz için 1 mL örnek 9 mL double distile su olacak şekilde seyreltilmiştir. Ardından vakum düzeneğinde, 0.45 µm filtre düzeneği yardımıyla örnek temiz ve dikkatli bir şekilde süzölmüştür. Süzöntü, ICP-MS cihazı için özel olan tüpe alınmıştır. Ardından tüpteki örneğin üzerine %1 nitrik asit ilave edilerek örneğin ağzı analiz gerçekleşene kadar sıkıca kapatılmıştır. Analitik ölçümlere başlamadan önce cihazın 30 dakika kadar çalıştırılıp ısı dengeye ulaşmasını sağlanmış ve ilk 15 dakikanın ardından optimizasyon, performans testi ve cihaz kurulum kalibrasyonları gerçekleştirilmiştir.

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer) katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, ucuz, hassas ve doğru biçimde, niteliksel,

niceliksel ya da yarı niceliksel olarak ölçülmesine olanak sağlayan bir analiz tekniğidir. ICP-MS teknolojisi sayesinde katı veya sıvı örneklerde 76 element aynı anda ve çok düşük derişimlerde (nanogram-pikogram/L) hassas ve hızlı bir şekilde analiz edilebilmektedir.

ICP-MS, örneklerin yüksek sıcaklıktaki bir plazmaya, genellikle argon, gönderilerek moleküler bağların kırıldığı ve atomların iyonlaştırıldığı bir analitik tekniktir. Örnek, genel olarak bir solüsyon halinde örnek giriş sistemi aracılığıyla nebulizöre ve spreyci odacığına sunulur. Burada yüksek hızlı argon akışı sayesinde örnek solüsyonu sisleştirilir. Sadece çok küçük damlacıklar argon plazmasına taşınır, diğerleri doğrudan atığa gider. Plazma örneği 6000 °K sıcaklıklardaki buharlaştırır ve iyonize eder. İyon akışı atmosferik basınçtan örnekleyici (sampler) ve süzücü (skimmer) konları aracılığıyla yüksek vakumlu bir ortama gider. Sonra iyon akımı iyon lensleri aracılığıyla quadrupola odaklanarak kütle filtresine yönlendirilir. İyonlar kütle spektrometrede kütle yük oranına göre ayrılırlar ve detektör tarafından ölçülürler.

3.2.5.10. SDS poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Peyniraltı suyu içeceği örneklerinde depolama süresince proteolitik gelişiminin ölçümünde SDS-PAGE jel elektroforez tekniğinden yararlanılmıştır (Özer ve ark., 1997). Buna göre; 1 mL peyniraltı suyu içeceği örneği 2 mg/mL protein konsantrasyonu elde edilebilecek şekilde destile su ile seyreltilmiştir. Bunun için araştırma süresince, her hafta her örnekten 2 mL örnek 2 mL destile su olacak şekilde steril tüplere hazırlanmış ve araştırma boyunca -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Ardından analiz zamanı, seyreltilmiş olan peyniraltı suyu içeceği

örnekleri, 1 mg/mL protein oranını elde edebilmek amacıyla 1:1 oranında örnek tamponu ile karıştırılmıştır. Proteoliz ürünlerin molekül ağırlıkları ve elektrik yüklerine göre ayrışmalarının sağlandığı ayırıcı jel konsantrasyonu %12.5 (Bio-Rad) olarak belirlenmiştir. Ayırıcı ve yoğunlaştırıcı jel çözeltileri aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

Akrilamid/bisakrilamid çözeltisi: 29.2 g akrilamid ve 0.8 g bisakrilamid destile su içerisinde çözündürülmüş ve hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır. Whatman No:1 filtre kağıdından süzöğdükten sonra çözelti 4 °C'de en fazla 1 hafta saklanmıştır.

Ayırıcı (seperating) jel tamponu: 36.3 g Tris base 100 mL destile su içerisinde çözöğdükten sonra pH 1 M HCl ile 8.8'e ayarlanmıştır. Toplam hacim 200 mL'ye tamamlandıktan sonra çözelti en çok 1 hafta süre ile 4 °C'de saklanmıştır.

Yoğunlaştırıcı (stacking) jel tamponu: 6 g Tris 40 mL destile su içerisinde çözöğdükten sonra 1 M HCl ile pH 6.8'e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 mL'ye tamamlandıktan sonra en çok 1 hafta süre ile 4 °C'de saklanmıştır.

Örnek tamponu: 1.5 g Tris, 2 g SDS, 2 mg bromfenol mavisi 60 mL destile su içinde çözöğdükten sonra üzerine 10 mL gliserol ilave edilmiştir. Karışımın pH'sı 1 M HCl ile 6.8'e ayarlanmış, ardından 2 mL 2-β-merkaptoetanol katılıp tekrar pH kontrolü yapılmıştır. Çözeltinin son hacmi 100 mL olarak ayarlanmıştır.

Elektrod tamponu: 30 g Tris base, 144 g glisin ve 10 g SDS destile su içerisinde çözöğdükten sonra hacim 2 L'ye tamamlanmıştır. Stok çözelti 4 °C'de depolanmış ve presipitasyon göröğlmesi durumunda 37 °C'yi geçmeyecek şekilde ısıtılarak partiköğllerin çözöğnmesi sağlanmıştır. Kullanım öncesi elektrod tamponu 1:5 oranında seyreltilmiştir.

%10 amonyum persulfat: Günlük olarak taze; %10 SDS ise haftalık olarak taze hazırlanmıştır.

Ayırıcı (separating) jel çözeltisi (%12.5 monomer konsantrasyonu)

Akrilamid stok çözeltisi	4.17 mL
Ayırıcı jel tamponu, pH 8.8	2.5 mL
Destile su	3.18 mL
%10 SDS	0.10 mL
Amonyum persülfat	50 µL
TEMED	5 µL

Yoğunlaştırıcı (stacking) jel çözeltisi (%4 monomer konsantrasyonu)

Akrilamid stok çözeltisi	0.65 mL
Yoğunlaştırıcı jel tamponu, pH 6.8	1.25 mL
Destile su	3.05 mL
%10 SDS	0.05 mL
Amonyum persulfat	25 µL
TEMED	5 µL

Commasie Brilliant Blue G-250 Boya Çözeltisi

Commasie Brilliant Blue	1 g
Metanol	400 mL
Glasiyel asetik asit	100 mL
Destile su	500 mL

Boya Geri Alma Çözeltisi

Metanol	400 mL
Glasiyel asetik asit	100 mL
Destile su	500 mL

(Seyhan, 2012b).

Jelin yürütülmesinde Bio-Rad marka mini jel elektroforez düzeneği kullanılmıştır (Bio-Rad Laboratories, Hertfordshire, İngiltere). Elektroforez cihazı 200 Volt sabit voltaj altında çalıştırılmıştır. Cihaza yüklenen örnek miktarı 20 µL olarak belirlenmiştir.

Analizde 0, 21 ve 42. günün stanollü ve stanolsüz olan örnekleri kullanılmıştır. Stanollü ve stanolsüz örnekler farklı jellerde analiz edilmiştir ve her hafta için farklı jellerde analiz yapılmıştır. Jellere örnek yükleme sırası her bir jel için sırasıyla marker, 150 kDa örneği, 200 kDa örneği, 400 kDa örneği ve 600 kDa örneği olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Yüklü moleküllerin bir elektrik alanı içinde yürütülerek ayrıştırılması tekniğine elektroforez adı verilmektedir. Elektroforezin çalışma ilkesi; molekül ağırlığı ve molekülde bulunan elektrik enerjisinin jel içinden bir yükten diğerine giderken katettiği mesafe farklarını ele almaktır. Elektroforezde katedilen mesafe, net yük ile doğru; molekül büyüklüğü ve elektroforetik ortamın viskozitesi ile ters orantılıdır.

SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat (SDS) poliakrilamid jel elektroforez) proteinlerin moleküler büyüklüğünü analiz etmek için kullanılmaktadır. SDS-PAGE, hemen tüm protein tiplerinin analizinde uygulanabilmektedir. SDS, proteinleri alt birimlerine ayıran bir deterjandır. Bu deterjan polipeptidlere bağlanarak bir kompleks oluşturur ve bu oluşan kompleks polipeptidlerin negatif yüklü kalmalarını sağlar. Poliakrilamid jel, elektriksel çekim kuvveti kullanılarak proteinleri boyutlarına göre ayırmak için kullanılan ortama denir.

3.2.5.11. Sedimentasyon analizi

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

3.2.6. Duyusal analizler

Duyusal analizlerde 10-puanlı hedonik skala değerlendirme modeli esas alınmıştır. Değerlendirmelerde 10 panelist yer almış ve her bir panelist aynı anda 10 örneği test etmiştir. Örnekler rastgele numaralandırılmış ve panelistler belirli bir sıra ile ürünleri test etmiştir. Değerlendirme formlarında sırasıyla renk, kıvam-yoğunluk, parçacık-partikül durumu, koku-aroma, peynirimsi koku-aroma, tat, yağimsi tat,

ağızda bıraktığı his, genel kabul edilebilirlik kriterleri yer almıştır (1 çok kötü, 10 çok iyi özellik) (Şekil 3.2).

3.2.7. İstatistiksel analizler

Örneklerin analizinde proses parametreleri bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Proses parametreleri (ısı, 200 MPa-5 dk, 400 MPa-5 dk ve 600 MPa-5 dk) ve depolama süreleri arasındaki farklılıklar çift yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiş (p ; 0.05) ve örnekler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanarak belirlenmiştir (Minitab 16.0).

Panelist adı-soyadı:

Yaşı:

Sigara kullanma durumu:

Tarih:

Lütfen örnekleri aşağıda belirtilen değerlendirme kriterlerini dikkate alarak puanlayınız.

(1) çok kötü.....(10) çok iyi

Size sunulan örnekler peynir altı suyundan hazırlanmış fonksiyonel içecektir. Bu içecek probiyotik bakterileri içermekte olup fonksiyonel özelliği sağlamak için ayrıca stanol eklenmiştir. Bu ürün çilek aroması ile zenginleştirilmiştir ve gıda maddesi olarak tüketime uygundur. Sizden istenilen ürün hakkındaki fikirlerinizi aşağıdaki puanlamaya göre yapmanızdır. Teşekkürler ☺

1- Görsel inceleme

renk

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
renksiz ve açık istenilen pembelikte ve parlak

kıvam-yogunluk

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
çok sulu-çok koyu kıvamı yerinde

parçacık-partikül durumu

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
parçacık-partikül var pürüzsüz

2- Koklayarak inceleme

koku-aroma

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
kötü koku-kokusuz tipik çilek aroması

peynirimsi koku-aroma

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
var yok

3- Tadararak inceleme

tad

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
anormal (peynirimsi) tad çilek tadında

yağimsı tad

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
yok var

ağızda bıraktığı his

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
tipik çilek değil tipik çilekli içecek tadı

genel kabul edilebilirlik

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10
beğenmedim beğendim

Yorumlarınız.....
.....

Şekil 3.2. Deneme örneklerinin duysal değerlendirmelerinde kullanılan form.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

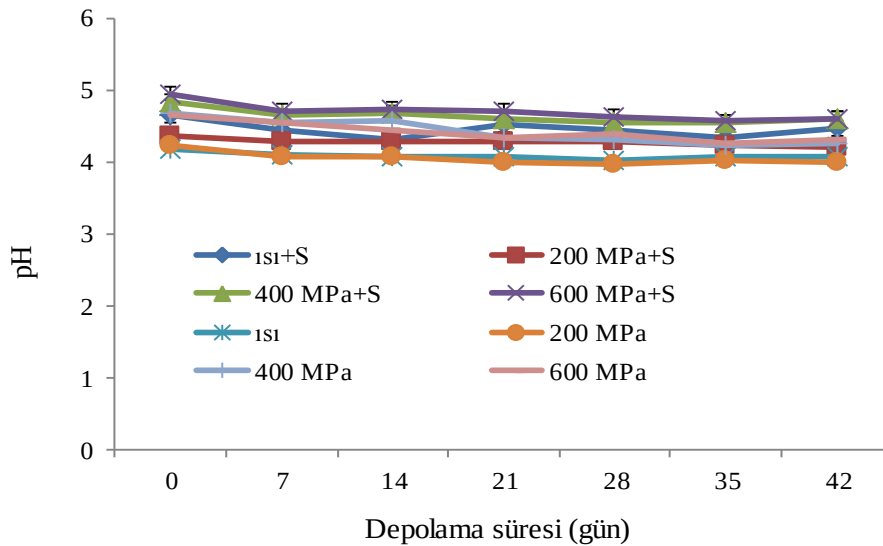
Denemeler kapsamında analiz edilen örnekler stanol eklenmemiş ve stanol eklenmiş örnek seti olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmıştır. Stanol eklenmemiş örneklerde 85 °C’de 15 dk (ısı), 200 MPa 5 dk (200 MPa), 400 MPa 5 dk (400 MPa) ve 600 MPa 5 dk (600 MPa) olmak üzere 4 farklı örnek yer almaktadır. Stanol eklenen örneklerde ise 85 °C’de 15 dk (ısı+S), 200 MPa 5 dk (200 MPa+S), 400 MPa 5 dk (400 MPa+S) ve 600 MPa 5 dk (600 MPa+S) olmak üzere 4 farklı örnek yer almaktadır. Stanol eklenmiş ve eklenmemiş tüm örnekler benzer şekilde 4 °C’de 42 gün boyunca depolanmış ve depolama süresince fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizler yapılmıştır.

4.1. pH

Örneklerin pH değerleri depolamanın başlangıcında 4.19 ile 4.95 arasında değişim göstermiştir. Depolamanın son gününde (42. gün) ise pH değerleri 3.98 ile 4.60 arasındadır. Depolama boyunca örneklerin pH değerlerinde çok az bir değişim gözlenmiş olup genel olarak uygulanan prosesler ve depolama süresi örneklerin pH değerlerinde önemli bir değişime neden olmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.1).

4.2. Titrasyon Asitliği

Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu ieeği örneklerinin depolama boyunca titrasyon asitliği değerlerindeki değişim % laktik asit cinsinden şekil 4.2.'de sunulmaktadır. Örneklerin titrasyon asitliği değerleri depolamanın başlangıcında %0.396 ile %0.868 arasında değişim göstermekte olup depolamanın sonunda ise %0.601 ile %1.134 arasındadır ($p>0.05$). Depolama süresi boyunca bazı örneklerin asitlik değerlerinde bir miktar artış görülmekle birlikte ($p\leq 0.05$), genel olarak bu farklılık örneklerin başlangıç asitliklerinin farklı olmasından ileri gelmektedir.

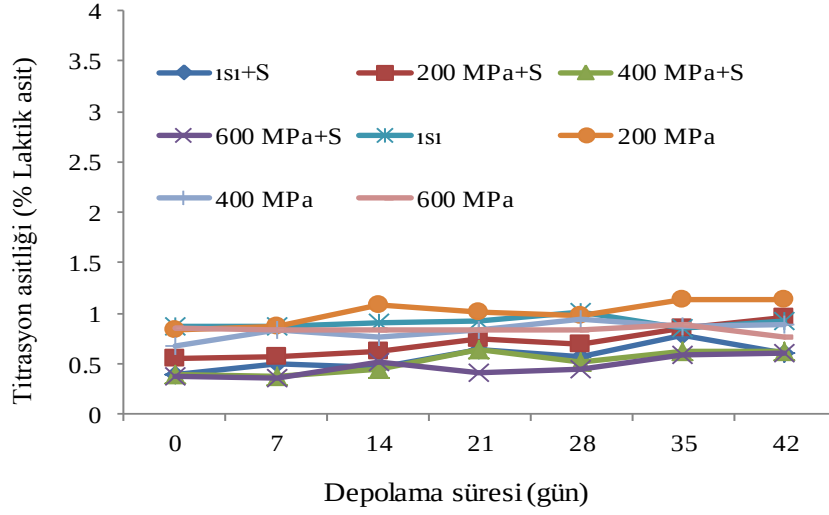


şekil 4.1. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca pH değerlerinde meydana gelen değişim ($n=2$).

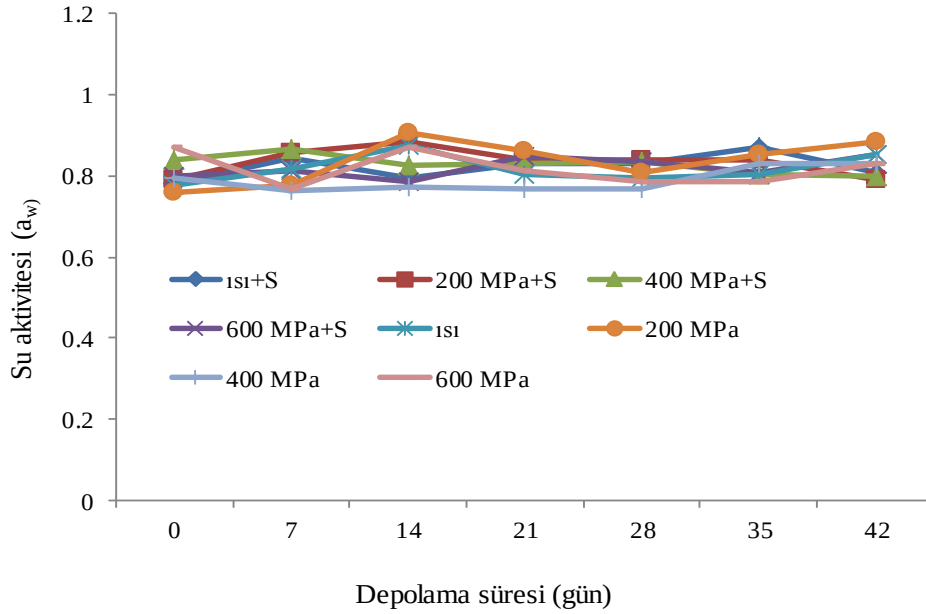
4.3. Su Aktivitesi

Örneklerin depolama boyunca su aktivitesi değerlerindeki değişim şekil 4.3.'de gösterilmektedir. Örneklerin su aktivitesi değerlerinde önemli bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Raf mr başlangıcında örneklerin su aktivitesi

değerleri 0.760 ile 0.871 arasındayken; depolamanın sonunda 0.789 ile 0.884 arasındadır ($p>0.05$).



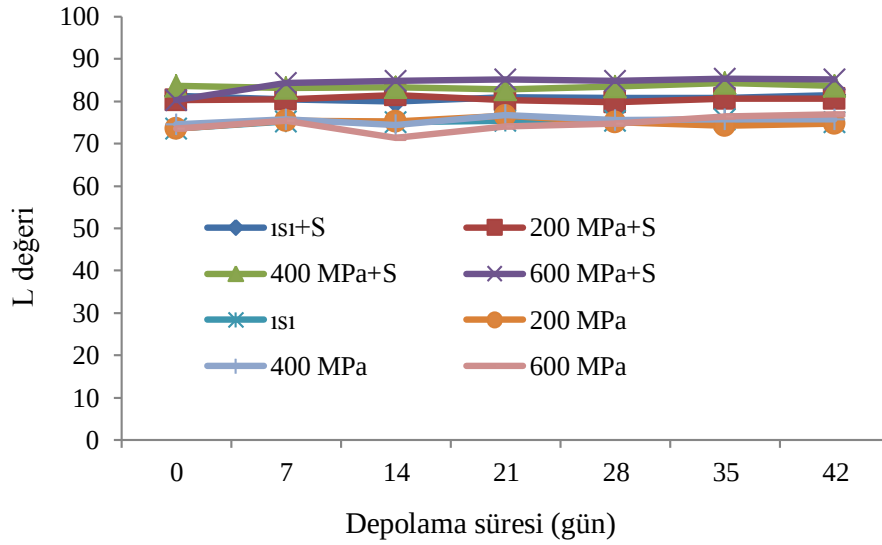
Şekil 4.2. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi (n=2).



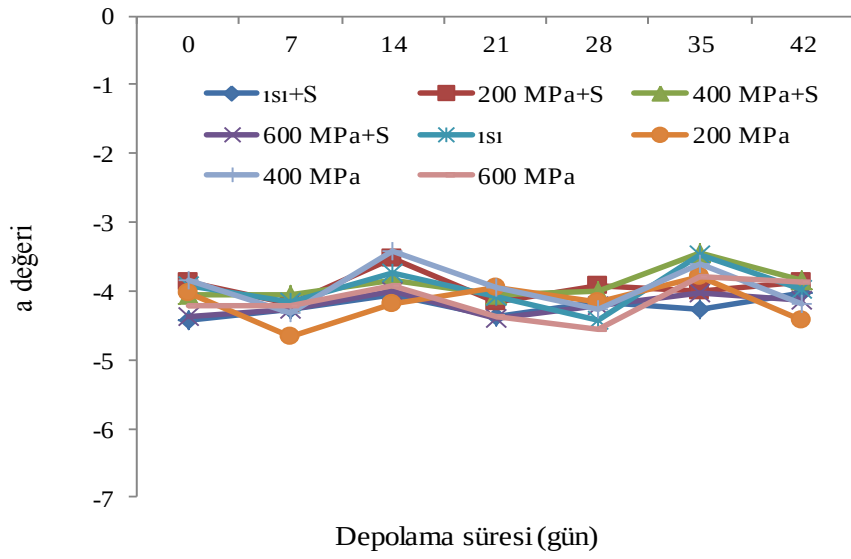
Şekil 4.3. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca su aktivitesi değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).

4.4. Renk

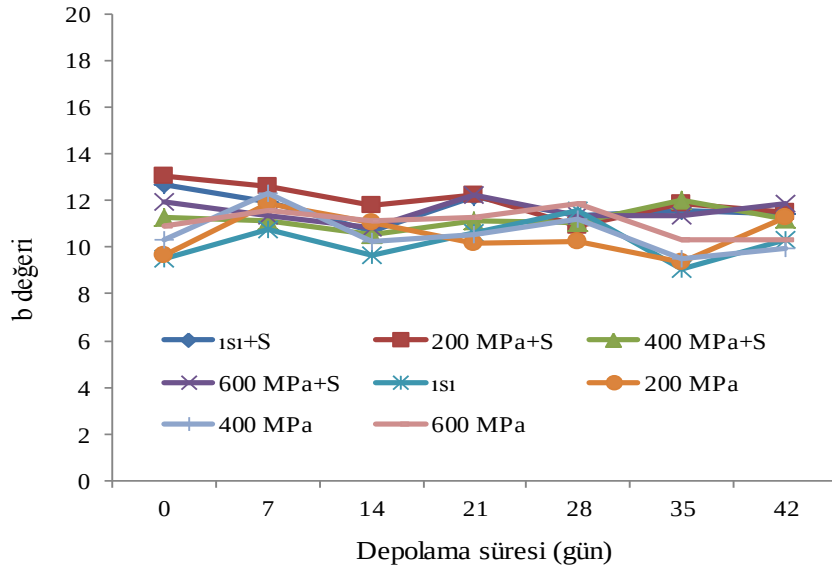
Oda sıcaklığında yapılmış olan renk ölçümlerinde, en yüksek parlaklık derecesi (L^*) 600 MPa+S, ardından ise 400 MPa+S örneklerine aittir. Genel olarak stanol içeren örneklerin “L” değerleri stanolsüz örneklere göre biraz daha yüksek tespit edilmiştir. Depolamanın başlangıcında (0.gün) “L” değerleri 73.494 ile 83.612 değerleri arasındayken depolamanın son gününde “L” değerleri 74.767 ile 85.261 arasındadır. Depolama süresince örneklerin “L” değerlerinde önemli bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca “L” renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



Şekil 4.5. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca "a" renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



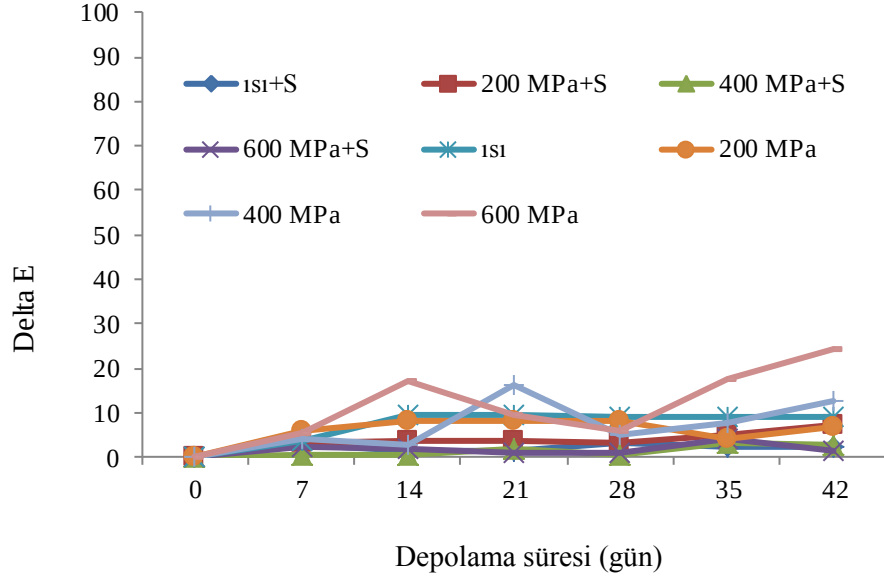
Şekil 4.6. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca "b" renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).

Depolama süresince örneklerin “a” değerleri incelendiğinde, depolamanın başlangıcında “a” değerleri -4.421 ile -3.849 arasındayken; depolamanın son gününde ise -4.411 ile -3.854 arasındadır. Depolama süresince “a” değerlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.5).

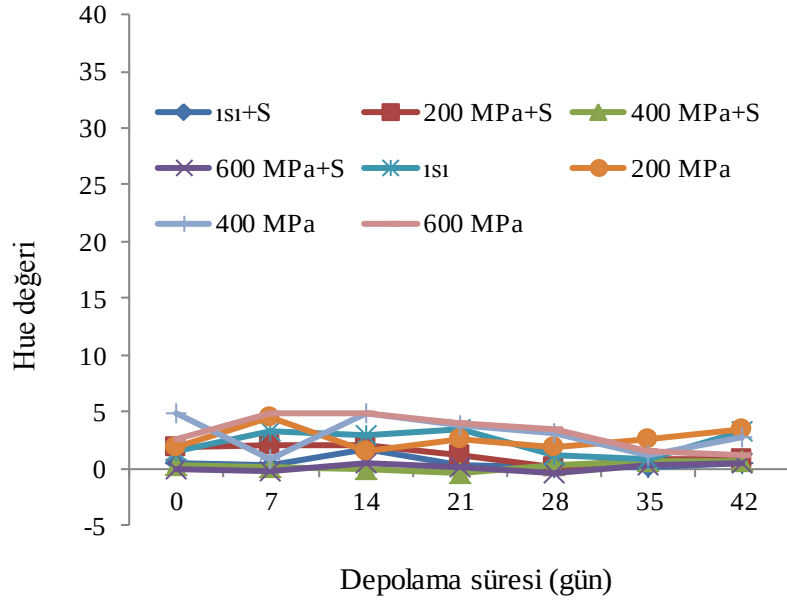
Depolama süresi boyunca genel olarak tüm örneklerin “b” değerleri birbirlerine yakın bulunmuştur ve depolama sürecinde “b” değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır. Depolamanın ilk gününde “b” değerleri 9.534 ile 13.058 arasında iken, depolamanın son gününde ise “b” değerleri 9.967 ile 11.883 arasında değişim göstermiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.6).

Toplam renk değişimi (ΔE -delta E) sonuçlarına bakıldığında, en büyük değişim 600 MPa örneğinde görülmektedir. Depolamanın son gününde (42.gün) 600 MPa örneğinin ΔE değeri 22.148'dir ($p\leq 0.05$). Depolamanın son gününde toplam renk değişimi yüksek olan diğer örnekler ise sırasıyla 400 MPa ve ısı örnekleridir. Depolamanın sonunda 400 MPa örneğinin ΔE değeri 12.789, ısı örneğinin ΔE değeri ise 8.933 bulunmuştur ($p\leq 0.05$). Stanollü ve stanolsüz 200 MPa örneklerinde de bir miktar değişim görülmekle birlikte kalan diğer örneklerin ΔE değerlerinde ise önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.7).

Aromalı peyniraltı suyu içeceğinin depolama süresi boyunca Hue değerlerine bakıldığında genel olarak tüm örneklerin Hue değerleri 0-5 arasında değişim göstermiş olup depolamanın farklı günlerinde Hue değerlerinde küçük oranlarda artış ve azalmalar görülmüştür. Depolama süresince tüm örneklerin Hue değerleri değerlendirildiğinde önemli bir farklılık gözlenmemektedir ($p>0.05$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca ΔE renk değerlerinde meydana gelen değişim.

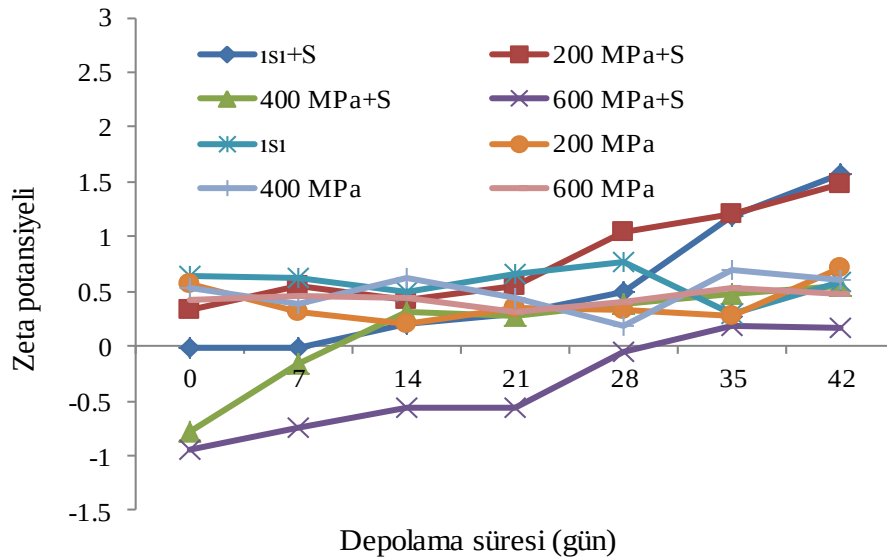


Şekil 4.8. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca Hue renk değerlerinde meydana gelen değişim.

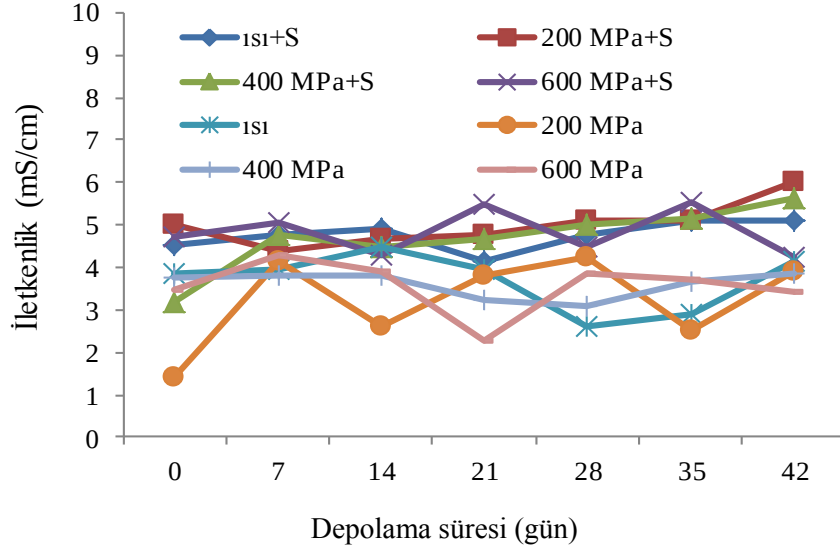
4.5. Zeta Potansiyeli ve Kondaktivite

Örneklerin zeta potansiyeline bakıldığında genel olarak zeta potansiyelinde çok fazla değişim olmamakla birlikte ısı+S, 600 MPa+S ve 400 MPa+S örneklerinin zeta potansiyelinde depolama süresince artış meydana gelmiştir (Şekil 4.9) ($p \leq 0.05$). Genel olarak örneklerin zeta potansiyeli değerlerine bakıldığında aromalı fonksiyonel peyniraltı içeceğinin kolloidal dağılımının stabilitesinin çok yüksek olmadığı görülmektedir.

Depolama süresince örneklerin iletkenlik değerlerine bakıldığında tüm örneklerin iletkenlik değerlerinin 3 ile 5 mS/cm arasında değişmektedir. Depolama süresince her örnekte iletkenlik bir miktar dalgalanma göstermekle birlikte, genel olarak örneklerin iletkenlik değerlerinde önemli bir değişim görülmemektedir ($p > 0.05$) (Şekil 4.10).

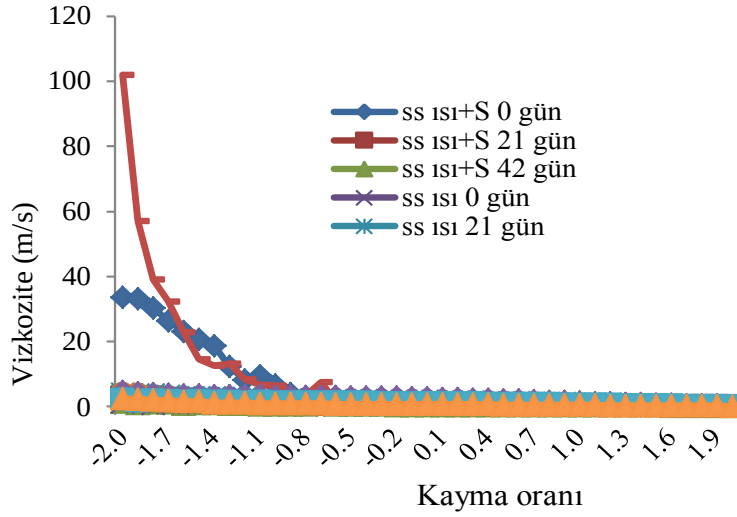


Şekil 4.9. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca zeta potansiyeli değerlerinde meydana gelen değişim.



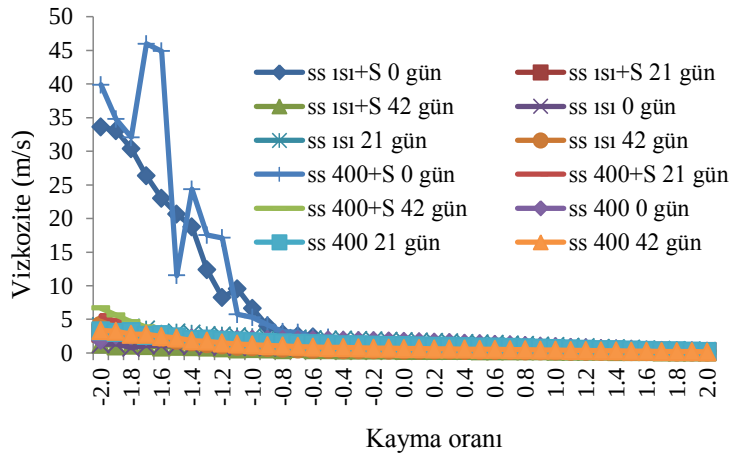
Şekil 4.10. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca iletkenlik değerlerinde meydana gelen değişim.

4.6. Reolojik Analizler



Şekil 4.11. Isı ve ısı+stanol, 200 MPa, 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.

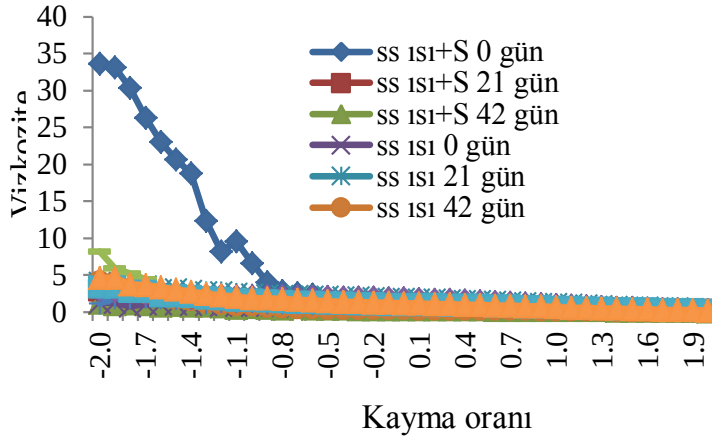
Stanol eklenmiş ve eklenmemiş ısı ve 200 MPa basınç ile proses edilen örneklerde genel olarak örneklerin viskozite değerlerinde fazla bir değişim gözlenmezken, 200 MPa+S örneğinin 21. gününde ve ısı+S örneğinin 0. gününde viskozite değerleri diğer örneklerle göre fazla bulunmuştur ($p<0.05$). Yine uygulanan kayma oranı (shear rate) ile bu örneklerin viskozitelerinde azalma gözlenmiştir. Bunun dışında diğer örneklerde uygulanan kayma oranı ile viskozitedeki değişim birbirlerine yakın bulunmuş ve depolama boyunca önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.12. Isı ve ısı+stanol, 400 MPa, 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerindeki meydana gelen değişim.

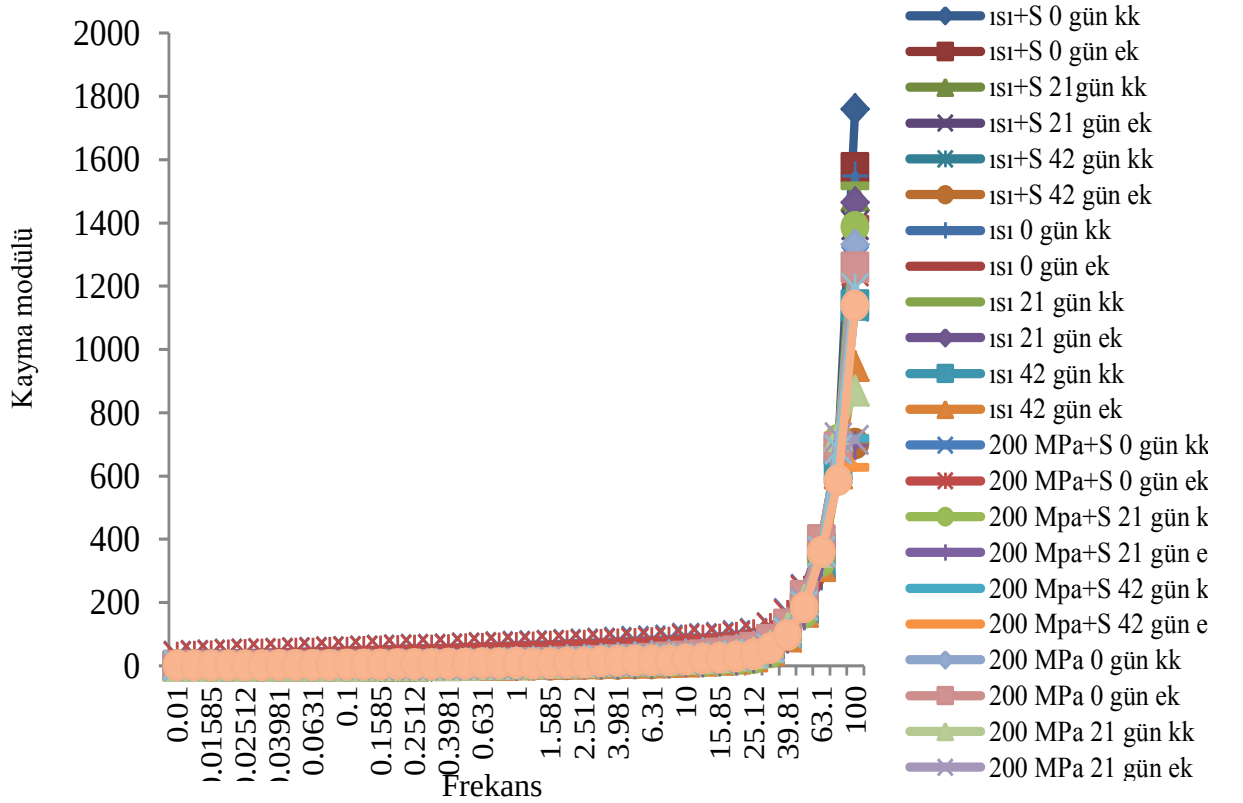
Stanol ilave edilmiş ve edilmemiş ısı ve 400 MPa basınç ile proses edilen örneklerde genel olarak örneklerin viskozite değerlerinde önemli bir değişim gözlenmezken, 400 MPa+S ve ısı+S örneklerinin 0. gününde viskozite değerleri diğer örneklerle göre fazla bulunmuştur ($p<0.05$). Uygulanan kayma oranı (shear rate)

ile bu örneklerin viskozitelerinde azalma gözlenmiştir. Diğer örneklerde uygulanan kayma oranı ile viskozitedeki değişim birbirlerine yakın bulunmuş ve depolama boyunca önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.12).



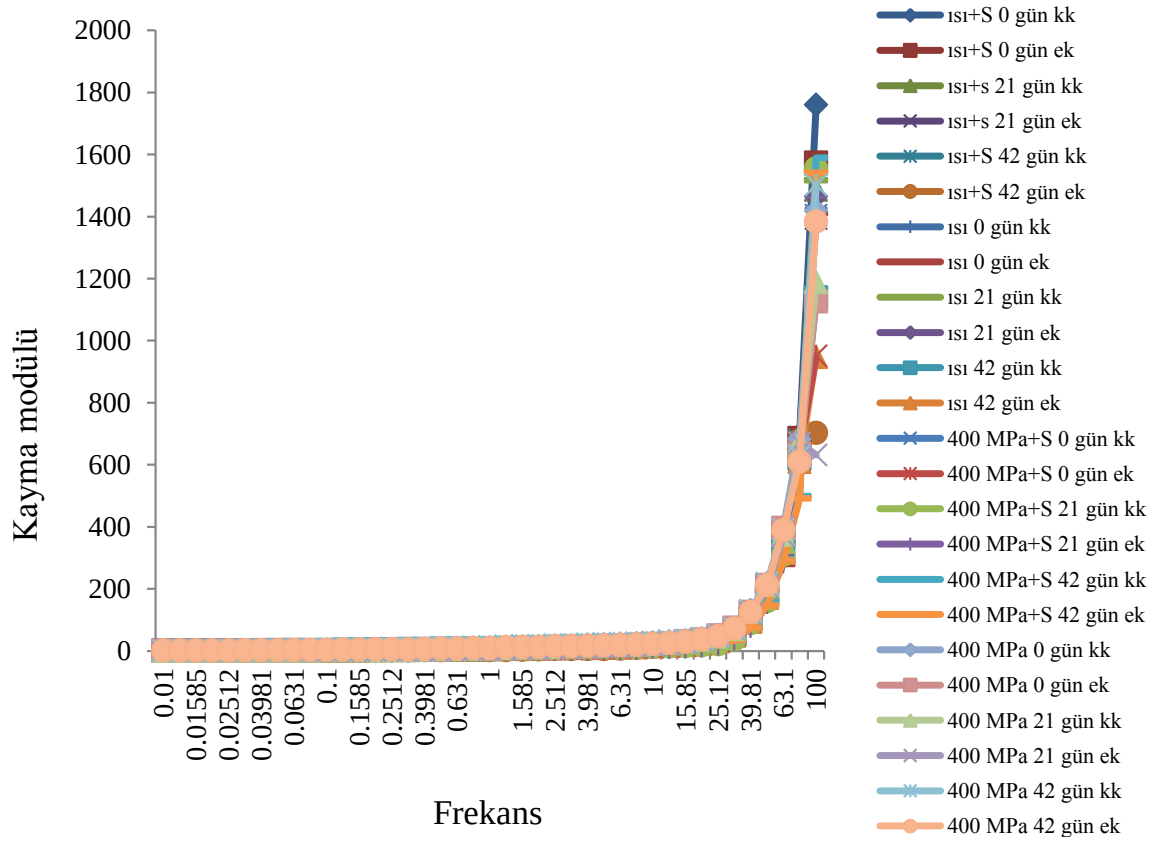
Şekil 4.13. Isı ve ısı+stanol, 600 MPa, 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.

Stanol eklenmiş ve eklenmemiş ısı ve 600 MPa basınç ile proses edilen örneklerde genel olarak örneklerin viskozite değerlerinde fazla bir değişim gözlenmezken ısı+S örneğinin 0. gününde viskozite değeri diğer örneklere göre fazla tespit edilmiştir ($p<0.05$). Yine uygulanan kayma oranı (shear rate) ile bu örneklerin viskozitelerinde azalma gözlenmiştir. Bunun dışında diğer örneklerde uygulanan kayma oranı ile viskozitedeki değişim birbirlerine yakın bulunmuş ve depolama boyunca önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.13).



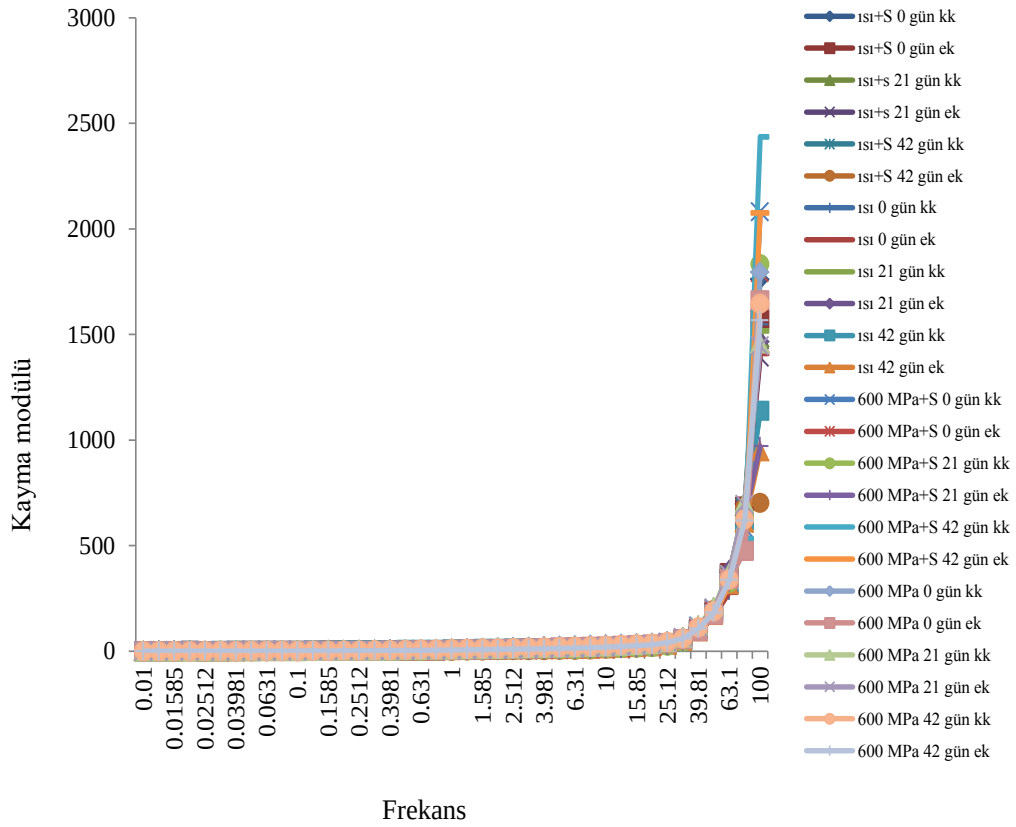
Şekil 4.14. 1S1, 1S1+stanol, 200 MPa ve 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks component (kk) ve elastik component (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.

200 MPa basınç uygulanan örneklerle 1S1 örnekleri karşılaştırıldığında yine artan frekansa karşılık kayma modülünde artış gözlenmiş ve bu durum depolama boyunca bütün örneklerde aynı şekilde gerçekleşmiştir. Kayma modülü açısından bakıldığında 1S1 örnekleri ile 200 MPa basınçla proses edilen örneklerde önemli bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.14). Stanol eklenmiş ve eklenmemiş 200 MPa ve 1S1 örnekleri de aynı eğilimi göstermiştir.



Şekil 4.15. 151, 151+stanol, 400 MPa ve 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks component (kk) ve elastik component (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.

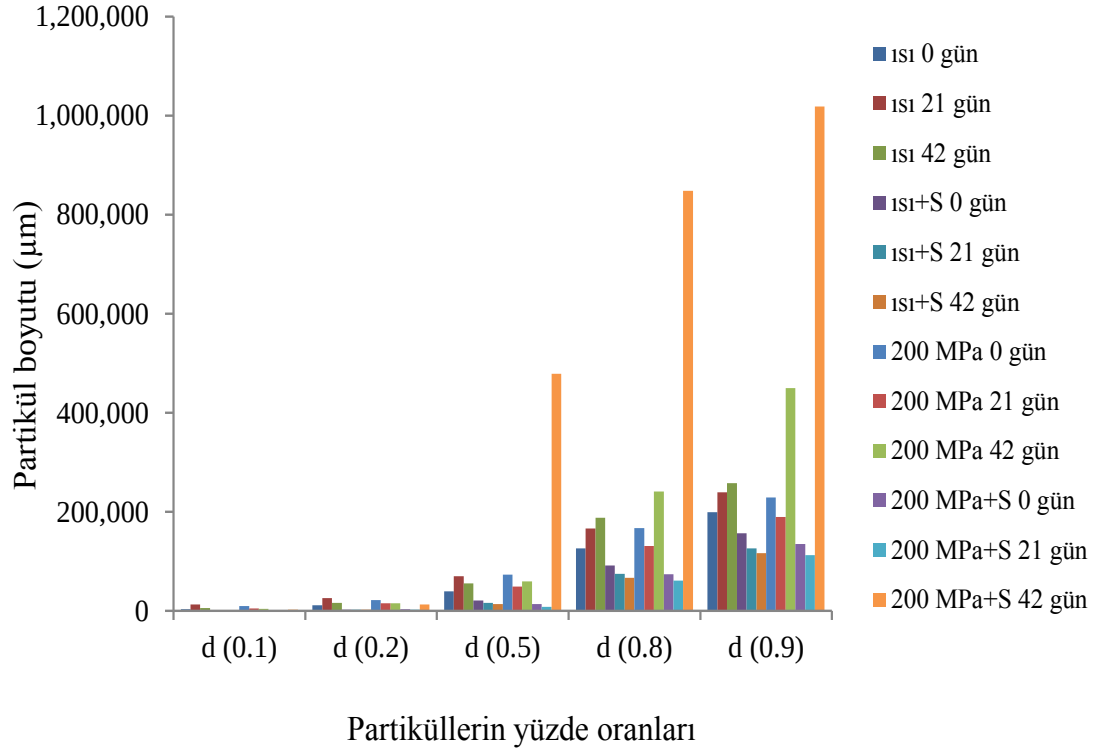
151 örnekleri ile 400 MPa basınç altında proses edilen örnekler karşılaştırıldığı zaman yine artan frekansa bağlı olarak kayma modülünde artış gözlenmiştir ve bu durum depolama süresince bütün örneklerde benzer biçimde ortaya çıkmıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.15). Stanol eklenmiş ve eklenmemiş 400 MPa ve 151 örnekleri de aynı eğilimi göstermiştir.



Şekil 4.16. ısı, ısı+stanol, 600 MPa ve 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks component (kk) ve elastik component (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.

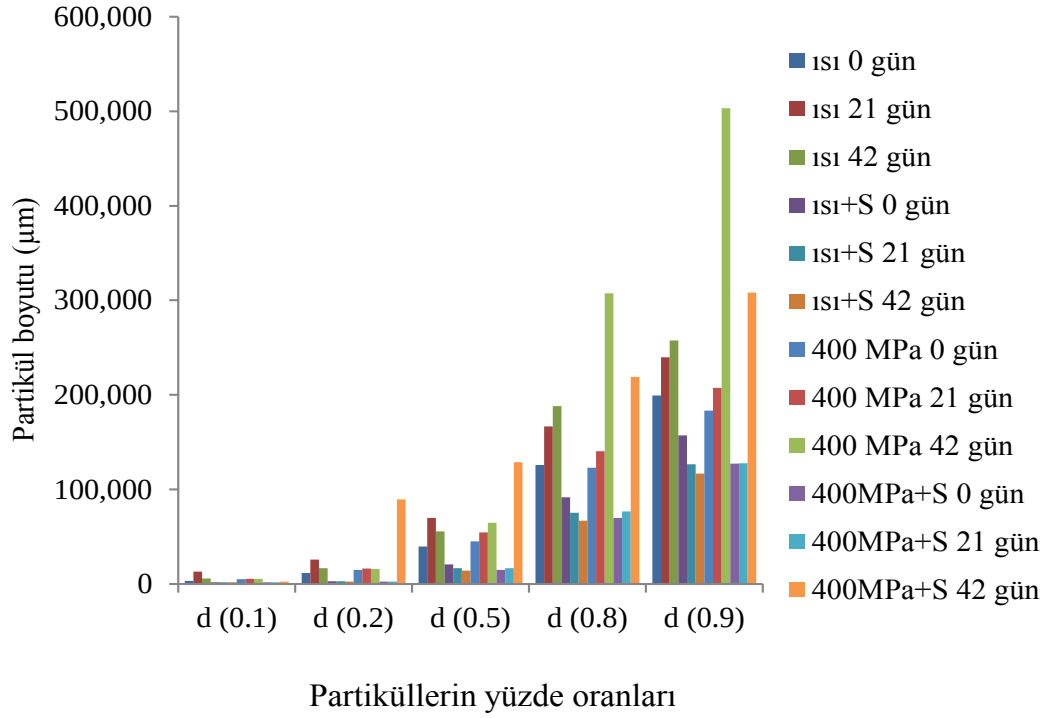
600 MPa basınç altında proses edilen örnekler ile ısı örnekleri karşılaştırıldığında yine artan frekans örneklerin kayma modülünde artmaya neden olmuş ($p \leq 0.05$), fakat gerek proses gerekse depolama şartları örnekler arasında bir farklılığa neden olmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.16). Stanol eklenmiş ve eklenmemiş 600 MPa ve ısı örnekleri de aynı eğilimi göstermiştir.

4.7. Partikül Büyüklüğü Ölçümleri



Şekil 4.17. ısı, ısı+stanol, 200 MPa ve 200 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.

Stanol ilave edilmiş ve edilmemiş ısı ve 200 MPa örneklerinin partiküllerinin %10'unun boyutları 33,288 µm'den küçük, %20'sinin boyutları 423,509 µm'den küçük, %50'sinin boyutları 617,836 µm'den küçük, %80'inin boyutları 848,169 µm'den küçük ve partiküllerin %90'ının boyutları ise 1,018,689 µm'den küçüktür (Şekil 4.17). Genel bir eğilim göstermemekle birlikte 200 MPa basınç ile proses edilmiş olan örneklerin bazı günlerindeki partikül boyutları ısı örneklerine göre daha büyüktür ($p \leq 0.05$).

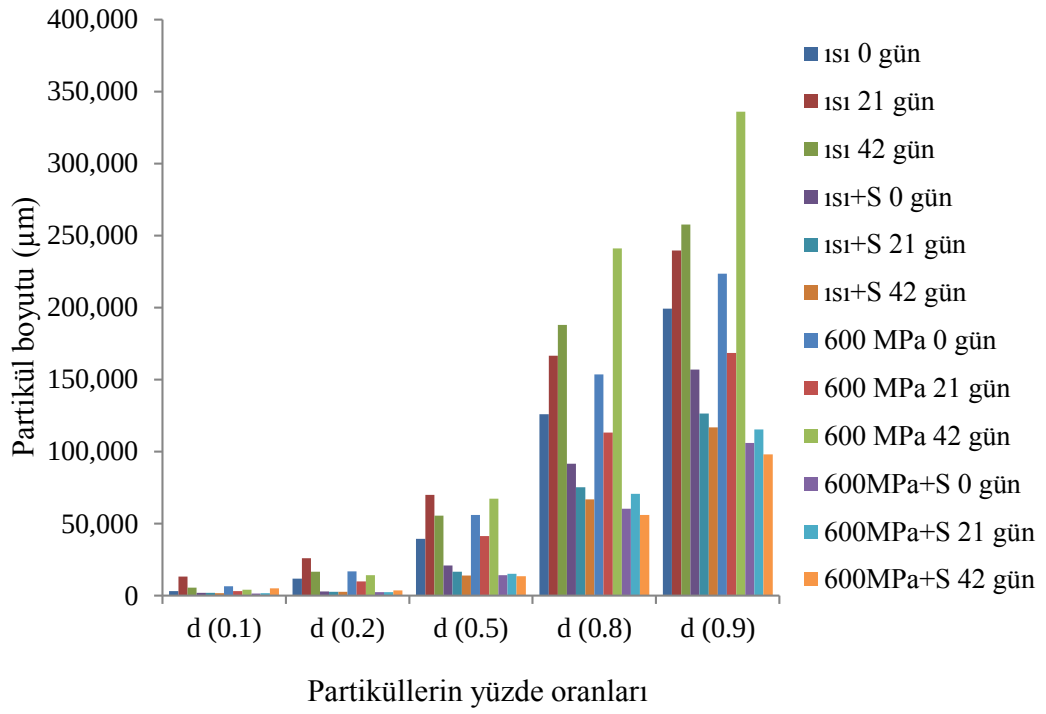


Şekil 4.18. Isı, ısı+stanol, 400 MPa ve 400 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.

Stanol eklenmiş ve stanol eklenmemiş kontrol ve 400 MPa örneklerinin partiküllerinin %10'unun boyutları 37,059 μm 'den küçük, %20'sinin boyutları 89,357 μm 'den küçük, %50'sinin boyutları 128,938 μm 'den küçük, %80'inin boyutları 370,330 μm 'den küçük, partiküllerin %90'ının boyutları ise 503,251 μm 'den küçüktür (Şekil 4.18). Genel değerlendirme sonucunda 400 MPa basınç ile proses edilmiş olan örneklerin bazı günlerindeki partikül boyutları ısı örneklerine göre daha büyük olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$).

Stanol eklenmiş ve stanol eklenmemiş ısı ve 600 MPa örneklerinin partiküllerinin %10'unun boyutları 13,159 μm 'den küçük, %20'sinin boyutları 25,884 μm 'den küçük, %50'sinin boyutları 304,781 μm 'den küçük, %80'inin boyutları 500,927 μm 'den küçük, partiküllerin %90'ının boyutları ise 671,087

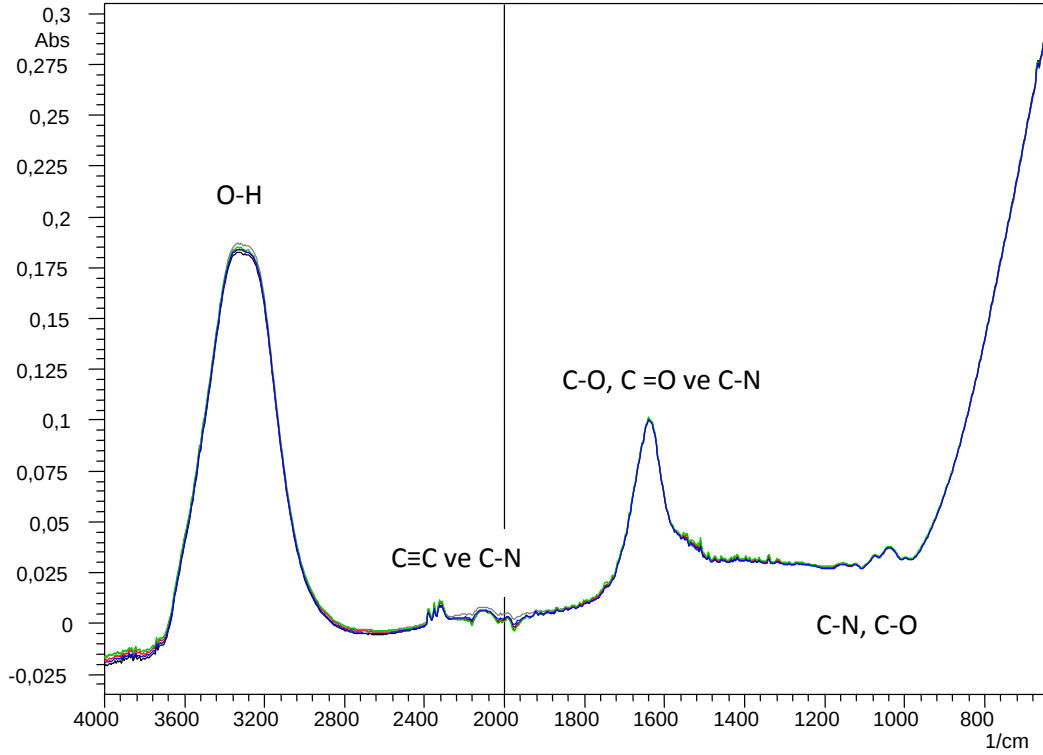
μm 'den n küçüktür (Şekil 4.19). Isı ile proses edilen örneklerle karşılaştırıldığında bu örneklerin partikül boyutları 600 MPa basınç ile proses edilmiş olan örneklerin partikül boyutlarına yakın bulunmuştur ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.19. Isı, ısı+stanol, 600 MPa ve 600 MPa+stanol aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.

4.8. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Ölçümleri

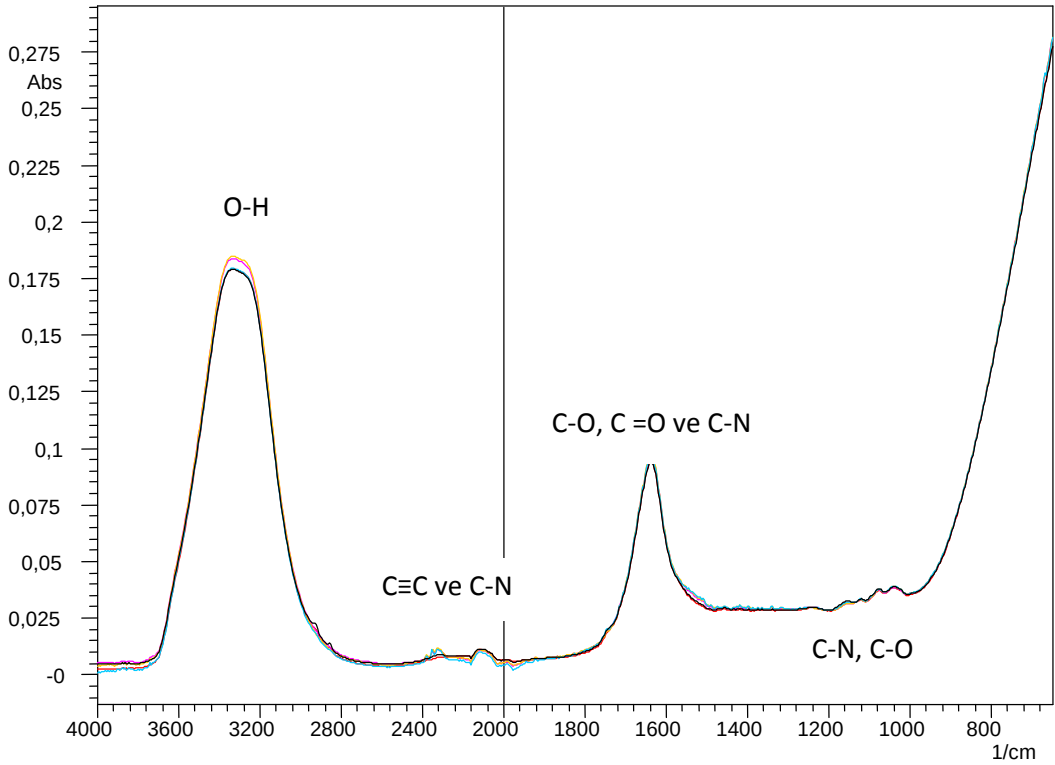
Aromalı fonksiyonel peyniraltı içeceğinin FT-IR profiline bakıldığı zaman genel olarak depolama süresince 0-42 günler arasında bir farklılık gözlenmemiş ve temel olan pikler aynı kalmıştır. Bu nedenle tekrar olmaması açısından sadece 0. günlere ait FT-IR profilleri verilmiştir.



Şekil 4.20. Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinin 0. gün FT-IR spektrumu (ısı+S ve 200 MPa+S, 400 MPa+S ve 600 MPa+S 5 dk proses edilmiş örnekler).

Spektrumda 3200-3600 1/cm aralığındaki pik genel olarak O-H bağı, yüksek konsantrasyonlarda alkol (fenol) piklerini ve 3500-3560 1/cm aralığındaki pikler ise düşük konsantrasyonlara karboksilik asit bağları temsil etmekte olup yine O-H bağı temsil etmektedir. 2100–2140 1/cm aralığındaki pik ise zayıf terminal alkinleri temsil etmektedir. 2165–2110 1/cm aralığı ise R-N-C bağlarını temsil etmekte olup spesifik olarak C-N bağı temsil etmektedir. 1615–1700 1/cm aralığında yer alan pik C=O piklerinin sahip olduğu konjuge etkilere sahiptir ve spesifik olarak C-N bağı temsil etmektedir. 1560–1640 1/cm aralığında (N-H) birincil aminler yer almaktadır. 1020–1220 1/cm aralığında (C-N) bağı bulunuyor.

alifatik aminler, 1100-1300 1/cm aralığında esterler 1000–1100 aralığındaki bantlar C-O bağına sahip esterler ordinary (C-X) floroaklanlara sahiptir (Şekil 4.20).



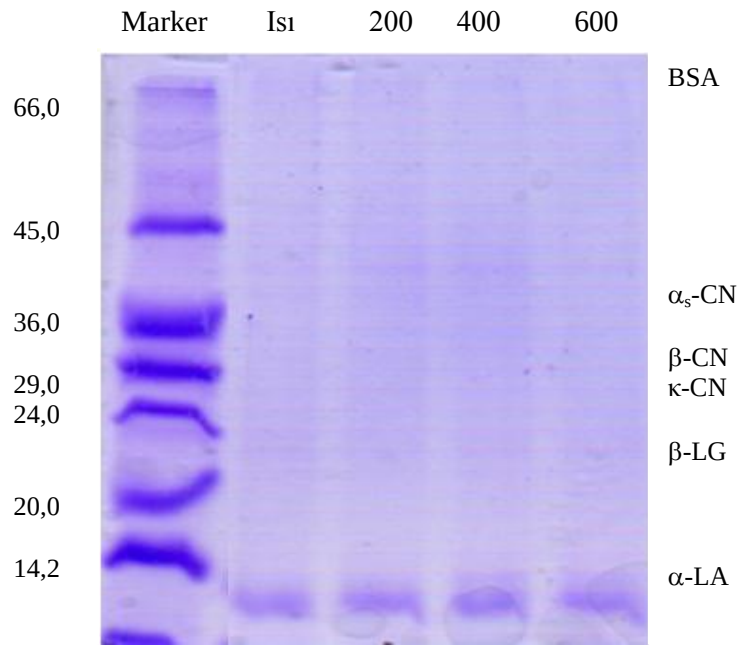
Şekil 4.21. Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün FT-IR spektrumu (1sı ve 200, 400 ve 600 MPa 5 dk proses edilmiş örnekler).

Stanol eklenmemiş örneklerin FT-IR spektrumlarına bakıldığında bu örneklerin spektrumlarının stanol eklenmişlerden çok farklı olmadığı görülmektedir. Yine depolama boyunca bu örneklerde de bir farklılık gözlenmediğinden 0. gün örneklerinin spektrumları gösterilmektedir. Spektrumlara ait pikler incelendiğinde 3200-3600 1/cm aralığındaki pik genel olarak O-H bağı ve yüksek konsantrasyonlarda alkol (fenol) piklerini ve 3500-3560 1/cm aralığındaki pikler ise düşük konsantrasyonlara karboksilik asitler temsil etmekte olup yine O-H bağı temsil etmektedir. 2100–2140 1/cm aralığındaki pik ise zayıf terminal alkinleri temsil etmektedir. 2165–2110 1/cm aralığı ise R-N-C bağlarını temsil etmekte olup

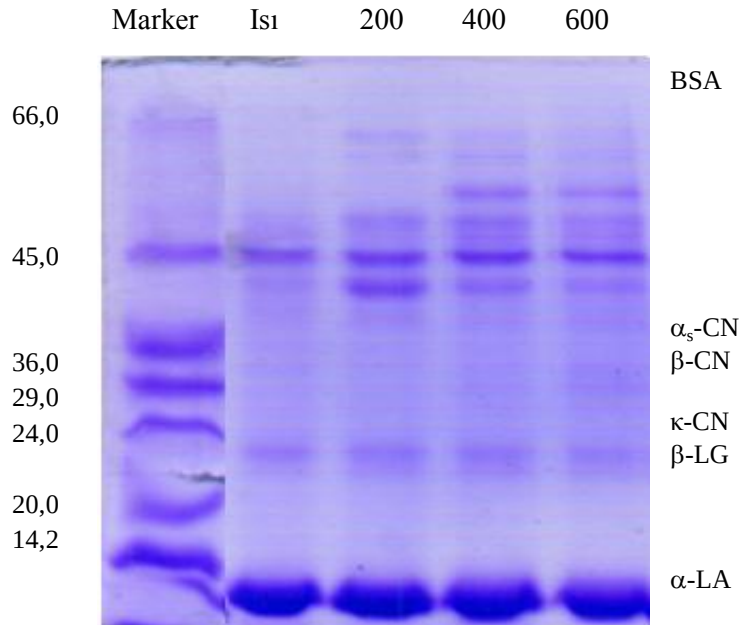
spesifik olarak C-N bağıını temsil etmektedir. 1615–1700 1/cm aralığında yer alan pik C=O piklerinin sahip olduğu konjuge etkilere sahiptir ve spesifik olarak C-N bağıını temsil etmektedir. 1560–1640 1/cm aralığında (N-H) birincil aminler yer almaktadır. 1020–1220 1/cm aralığında (C-N) bağıının bulunduğu alifatik aminler, 1100-1300 1/cm aralığında esterler 1000–1100 aralığındaki bantlar C-O bağıına sahip esterler ordinary (C-X) floroaklanlara sahiptir (Şekil 4.21).

4.9. SDS-PAGE Analizi

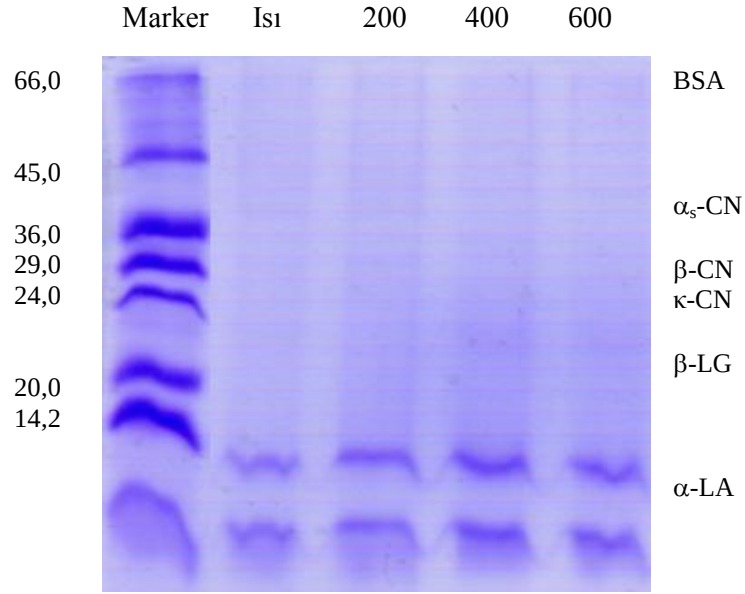
Peyniraltı suyu içeceğinin SDS-PAGE incelemelerinde stanol ilave edilmemiş olan örneklerde YHB uygulamasının özellikle kazein fraksiyonları üzerindeki etkilerinin belirgin olduğu ve kazein fraksiyonlarının hidrolizasyonunun ve/veya serum proteini kazein interaksiyonlarının kısmen hız kazandığı görülmüştür. Özellikle 400 MPa ve 600 MPa basınç uygulamaları ile β -laktoglobulin ve α -laktalbumini temsil eden bantların yoğunluğunda sınırlı da olsa artış kaydedilmiştir. Depolama süresi boyunca protein davranışlarında bir değişim görülmemiştir. Bu durum YHB uygulamasının geri dönüşümsüz (irreversible) karakter taşıyan etki yarattığına işaret etmektedir. 0. ve 42. günler arasında elektroforetik değişim ya da yüksek basınç uygulanan örneklerde zamana bağlı bir renatürasyon gözlenmemiştir. κ -CN ve β -CN'i temsil eden bantların (24 kDa ve 29 kDa) yoğunluğunun marker'a oranla daha düşük olması peyniraltı suyunun kazein içeriğinin düşüklüğünden kaynaklanmaktadır.



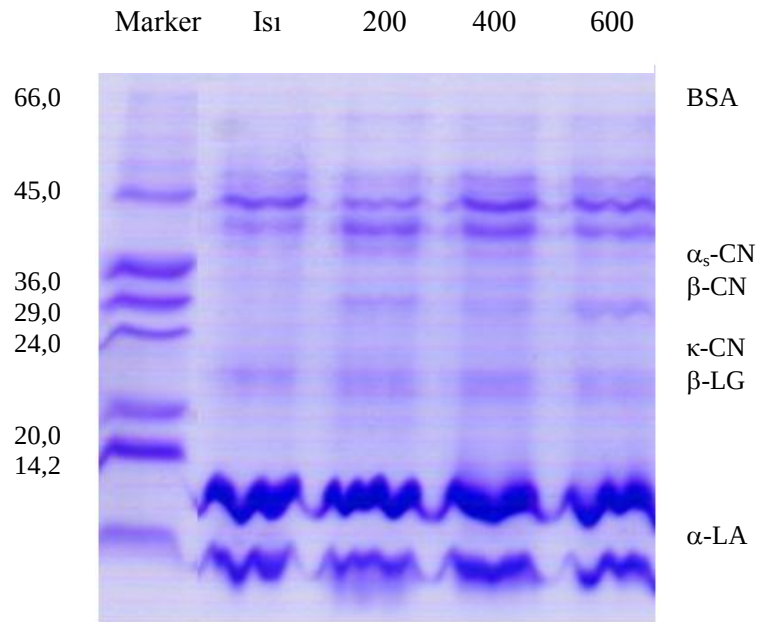
Şekil 4.22. Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün SDS-PAGE jel görüntüleri



Şekil 4.23. Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 0. gün SDS-PAGE jel görüntüleri



Şekil 4.24. Stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 42. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.



Şekil 4.25. Stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peynir altı suyu örneklerinin 42. gün SDS-PAGE jel görüntüleri.

Genel olarak 400-600 MPa basınç uygulaması ve ısı uygulaması kazeinler ve serum proteinleri üzerinde benzer etkiler yaratmıştır (Şekil 4.22-4.25). Stanol ilavesinin ise ilgi çekici bir biçimde kazein ile serum proteinleri interaksyonunu kısmen engellediği görülmüştür. Kazeini temsil eden bantlar stanolsüz ürünlerde son derece silik iken stanol ilave edilen örneklerde bu bantların varlığı çok net bir biçimde görülmektedir (24 kDa bant aralığı). Stanol ilave edilmiş örneklerde 400 ve 600 MPa basınçta kazein parçalanma ürünü olduğu tahmin edilen bir bandın varlığı dikkat çekmektedir. Bu bant ısı uygulanmış ya da 200 MPa basınca tabi tutulmuş örnekte görülmemektedir. Depolamanın 21. gününden itibaren β -kazein ve α -s kazeini temsil eden bantların tekrar belirginleşmeye başladığı anlaşılmıştır. Bu durum kazein fraksiyonlarının diğer süt protein fraksiyonları ile olan interaksyonlarının özellikle pH'ya bağlı bir geri dönüşüm karakteri taşıdığını göstermektedir (Şekil 4.22-4.25).

4.10. ICP-MS Analiz Sonuçları

Örneklerin metal iyon içeriklerine bakıldığında (Be, C, Na, Mg, Al, P, K, Ca, V, Cr, ClO, Mn, Fe, Ni, Co, Zn, Cu, As, ArCl, Se, Kr, Cd, Ag, MnO, Sn, Sb, Te, Ba, Ce, Tr, Pb) tüm örneklerde genel olarak sodyum, fosfor, magnezyum, potasyum ve kalsiyum oranlarının çok yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Bu beş metal iyonunun yüksek olması aynı zamanda örneklerin iletkenliğinin yüksek olmasına da neden olmuştur. Ayrıca stanol ilave edilmiş örneklerin metal iyon içeriklerinin, stanol ilave edilmemiş örneklere kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi ise nutrasötik bir bileşen olan stanolün ilavesi ve stanolün içeriğinden gelen metal iyonlarıdır.

Tablo 4.1. ICP-MS ile analiz sonucu elde edilen aromalı fonksiyonel peynir altı suyu içeceğine ait element tablosu (ppm) (n=3).

	Isı+S	200 MPa+S	400 MPa+S	600 MPa+S	Isı	200 MPa	400 MPa	600 MPa
Be (9)*	19.7±0.338	18.97±0.63	20.75±0.91	18.37±0.73	0.048±0.03	0.03±0.057	0.056±0.06	0.025±0.033
C (13)	0	0	0	0	0	0	0	0
Na (23)	92430±282	93020±832	76760±525	88520±1273	32510±386	32620±357	29920±399	31410±325
Mg (24)	18690±130	19050±113	15400±149	17940±313	6901±11.33	6589±75.81	6013±115.9	6285±61.6
Al (27)	103.9±12.6	87.34±0.85	62.27±1.58	58.4±1.453	30.46±0.25	20.59±0.66	14.47±0.64	11.33±3.834
P (31)	88670±181.5	89660±929.5	73900±897.4	87950±680.4	39210±115.3	40110±408.9	37090±607.9	39160±294.6
K (39)	303200±528	311300±2752	255800±2132	303500±4889	115700±40	118800±141	110300±2310	116000±199
Ca (43)	0	0	0	0	0	0	0	0
Ca (44)	97660±296.2	99590±345.8	81480±645.1	96340±518.2	52670±554.8	52290±852.2	47690±534.5	50250±411.2
V (51)	24.42±0.107	23.66±0.299	22.42±0.254	22.45±0.361	8.076±0.13	6.045±0.034	4.387±0.067	3.716±0.142
Cr (52)	26.6±0.196	26.2±0.603	24.82±0.714	25.51±0.182	3.923±0.09	4.046±0.109	3.415±0.091	3.931±0.035
ClO (53)	0	0	0	0	0	0	0	0
Mn (55)	25.71±0.295	24.78±0.395	22.78±0.355	26.7±0.232	2.859±0.04	1.531±0.062	1.203±0.05	1.262±0.03
Fe (56)	99.94±9	101.2±10.13	101.1±1.736	127.3±9.96	116.5±4.12	106.7±0.664	87.47±2.973	76.28±1.802

Ni (58)	23.77±0.22	25.43±0.78	27.72±0.51	29.89±0.72	2.904±0.11	1.386±0.131	1.099±0.174	1.684±0.066
Co (59)	16.7±0.25	16.78±0.219	16.88±0.301	17.11±0.193	0.122±0.03	0.118±0.042	0.121±0.009	0.125±0.015
Ni (60)	25.62±0.449	27.61±1.013	29.51±0.955	31.47±1.128	4.519±0.06	2.965±0.023	2.54±0.201	3.247±0.284
Zn (64)	172±2.325	252±4.698	232±2.419	1028±22.91	63.82±1.03	39.44±0.475	35.1±0.482	35.6±0.184
Cu (65)	23.6±0.898	25.5±1.197	25.58±0.478	27.47±0.362	14.68±0.17	3.46±0.228	2.142±0.114	2.233±0.038
Zn (66)	183.1±1.584	267.7±2.596	250.3±2.255	1089±13.52	66.95±0.09	40.42±1.226	36.13±0.426	37.2±0.577
As (75)	21.43±0.882	21.11±1.422	20.12±0.403	18±3.051	-3.04±0.58	2.114±0.503	1.731±0.869	1.855±0.279
Ar Cl (77)	0	0	0	0	0	0	0	0
Se (82)	22.98±3.355	23.45±1.998	25.13±0.337	20.55±5.46	1.974±0.32	0.477±0.813	-1.28±1.499	1.138±1.331
Kr (83)	0	0	0	0	0	0	0	0
Cd(106)	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag (107)	16.18±0.308	16.62±0.15	16.59±0.234	16.49±0.408	0.051±0.01	0.033±0.006	0.037±0.017	0.055±0.005
Mn O (108)	0	0	0	0	0	0	0	0
Cd(111)	19.06±0.488	19.85±0.349	19.99±0.061	19.8±0.488	0.001±0.04	0.038±0.023	0.03±0.07	0.023±0.098
Cd(114)	0	0	0	0	0	0	0	0
Sn(118)	0	0	0	0	0	0	0	0

Sb(121)	39.66±0.375	35.32±0.183	30.79±0.061	28.58±0.388	1.375±0.02	0.939±0.031	0.358±0.027	0.519±0.033
Sb(123)	41.46±0.266	35.57±0.531	32.25±0.589	30.07±0.576	1.371±0.03	0.912±0.084	0.327±0.047	0.51±0.033
Te(125)	0	0	0	0	0	0	0	0
Ba (137)	38.92±0.39	35.99±0.221	31.57±0.477	35.91±0.322	9.69±0.257	4.471±0.143	3.836±0.126	4.414±0.18
Ba (138)	37.39±0.254	34±0.158	29.83±0.752	34.67±0.477	6.914±0.07	3.243±0.062	2.733±0.024	3.351±0.07
Ce (140)	0	0	0	0	0	0	0	0
Tl (205)	17.95±0.232	17.67±0.049	17.18±0.015	17.04±0.138	0.031±0.00	0.039±0.003	0.044±0.001	0.049±0.002
Pb (206)	27.46±0.251	26.05±0.331	23.99±0.511	25.89±0.401	1.567±0.08	0.8±0.063	0.77±0.054	0.547±0.027
Pb (207)	29.37±0.273	27.26±0.114	25.1±0.047	27.01±0.393	1.931±0.03	1±0.061	0.965±0.081	0.73±0.065
Pb (208)	28.25±0.165	26.34±0.239	24.4±0.162	26.15±0.345	1.651±0.01	0.885±0.064	0.841±0.057	0.628±0.033

* Molekül kütles

Delta Backscattering

A

8%
6%
4%
2%
0%
-2%
-4%
-6%
-8%
-10%
-12%
-14%
-16%
-18%

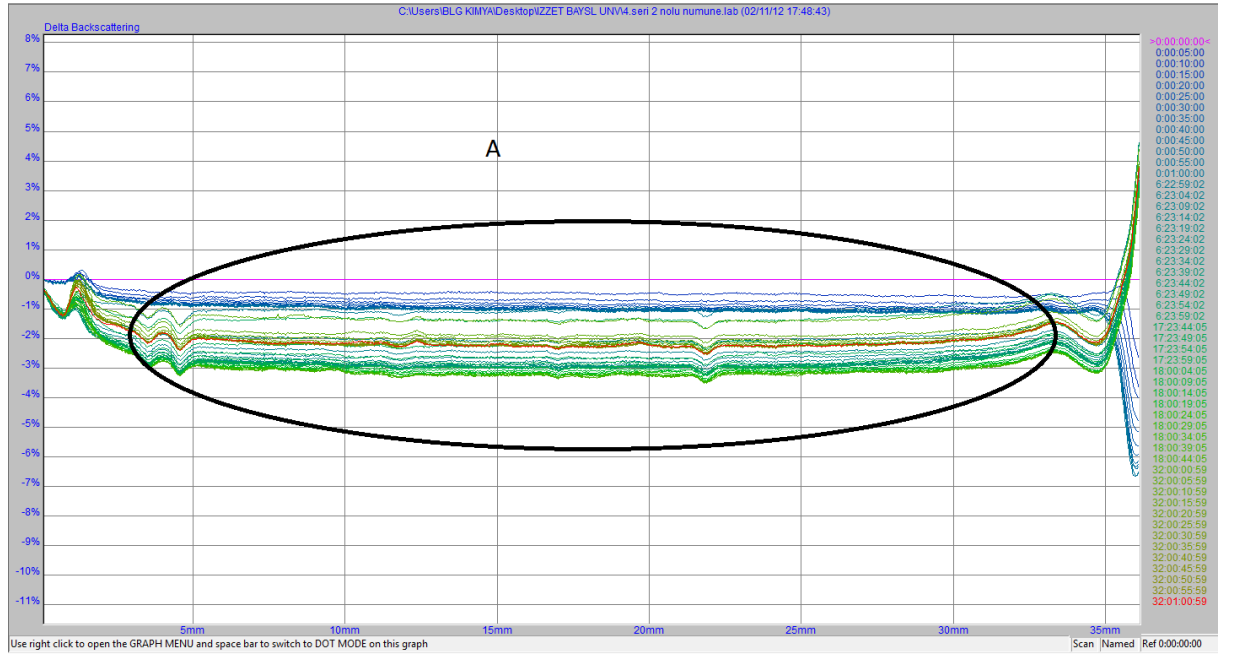
2mm 4mm 6mm 8mm 10mm 12mm 14mm 16mm 18mm 20mm 22mm 24mm

00:00:00
00:00:05
00:00:10
00:00:15
00:00:20
00:00:25
00:00:30
00:00:35
00:00:40
00:00:45
00:00:50
00:00:55
00:01:00
10:04:36:40
10:04:41:40
10:04:46:40
10:04:51:40
10:04:56:40
10:05:01:40
10:05:06:40
10:05:11:40
10:05:16:40
10:05:21:40
10:05:26:40
10:05:31:40
10:05:36:40
18:02:18:24
18:02:23:24
18:02:28:24
18:02:33:24
18:02:38:24
18:02:43:24
18:02:48:24
18:02:53:24
18:02:58:24
18:03:03:24
18:03:08:24
18:03:13:24
18:03:18:24
33:23:02:07
33:23:07:07
33:23:12:07
33:23:17:07
33:23:22:07
33:23:27:07
33:23:32:07
33:23:37:07
33:23:42:07
33:23:47:07
33:23:52:07

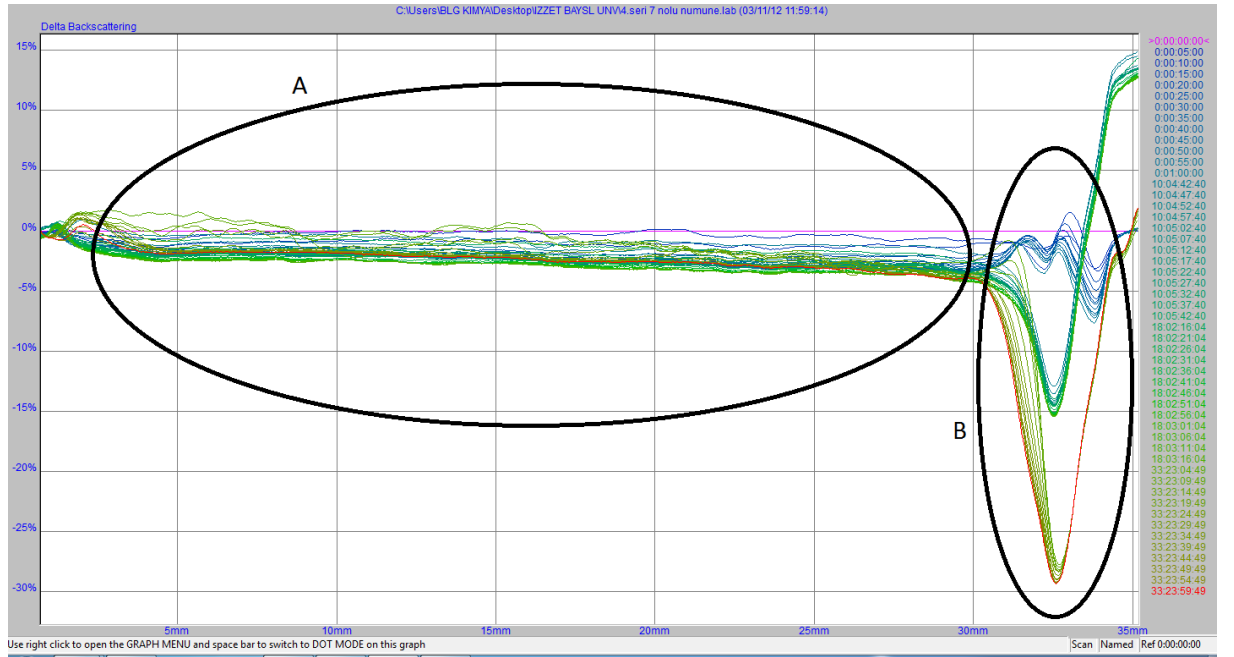
Use right click to open the GRAPH MENU and space bar to switch to DOT MODE on this graph

Scan: Named Ref: 0:00:00.00

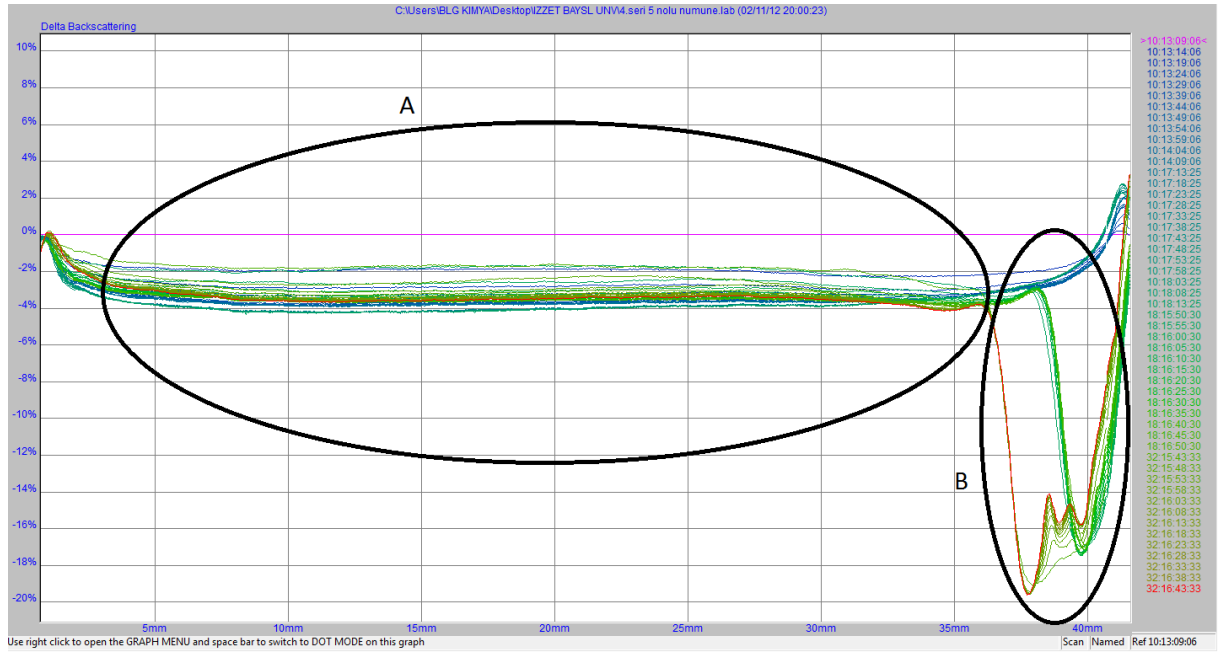
74



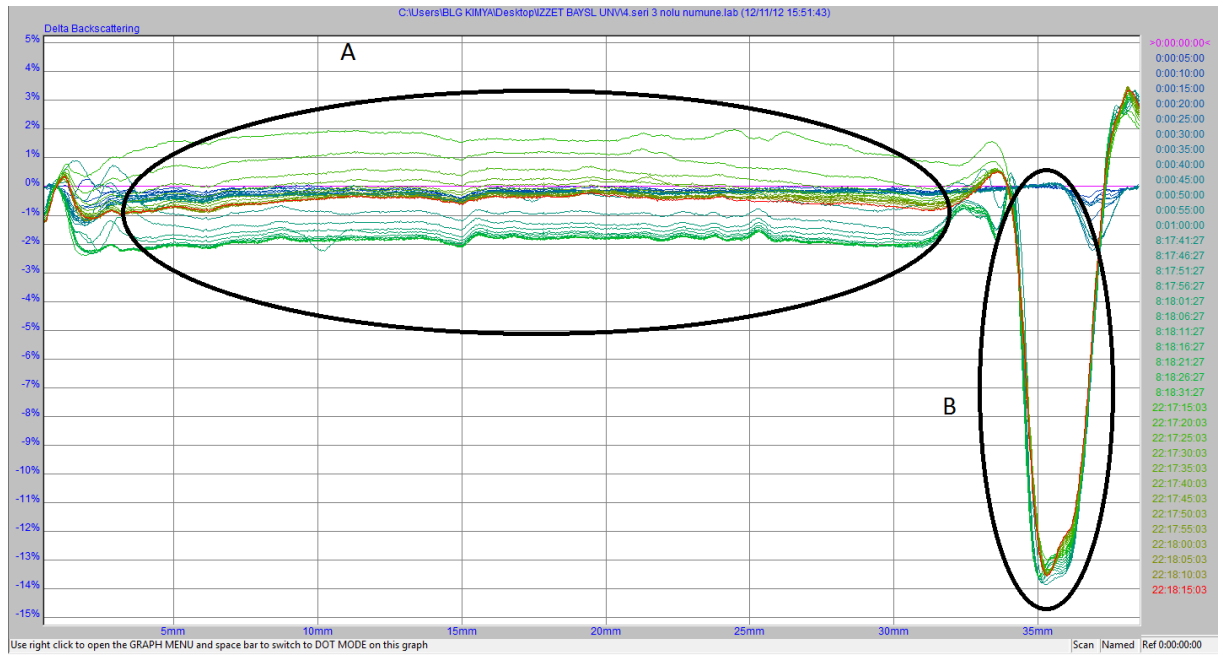
Şekil 4.28. 400 MPa basınç altında 5 dk süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.



Şekil 4.29. 400 MPa basınç altında 5 dk süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.



Şekil 4.30. 600 MPa basınç altında 5 dk süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.

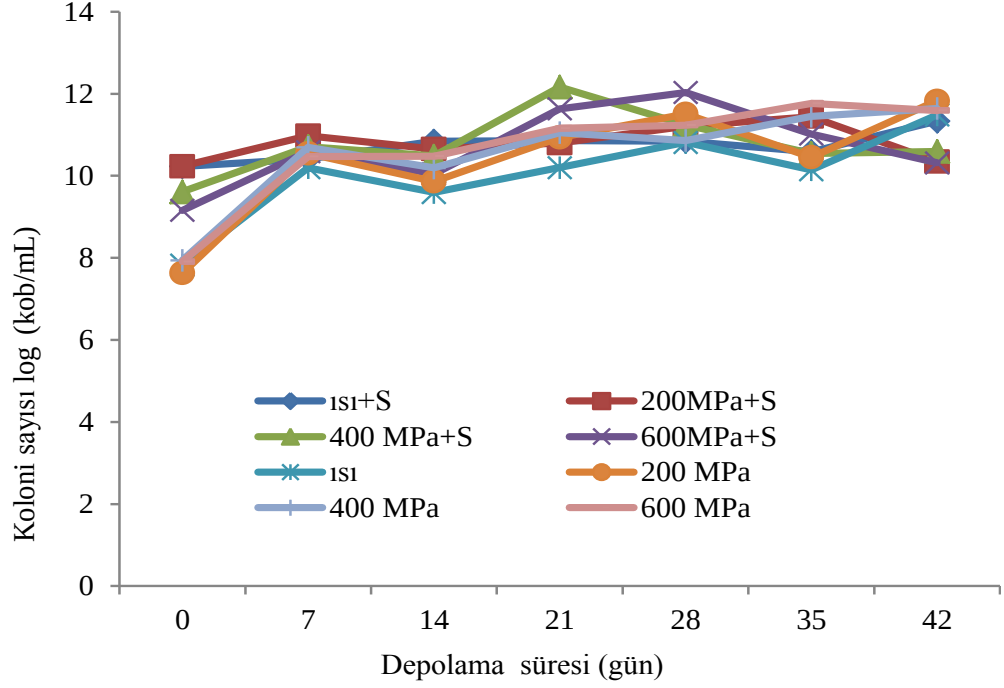


Şekil 4.31. 600 MPa basınç altında 5 dk süre ile proses edilmiş ve stanol eklenmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu örneklerinin sedimentasyon grafiği.

Genel olarak değerlendirme yapılırsa, grafiklerde A ile gösterilen bölgeler topaklanma ya da partiküllerin birleşimini ifade etmektedir. B bölgeleri ise vial in üst kısımlarının yavaş yavaş transparanlaştığı ve partiküllerin aşağıya doğru ktğn ifade etmektedir. Bu nedenle, örneklerin raf mr süresince sedimentasyona olan eğilimlerine bakıldığında A bölgesinde örneklerin sedimentasyon oranlarında fazla değişim gözlenmezken depolama sonuna doğru özellikle vialin üst kısımlarından alt kısımlara doğru partikül hareketlerinden dolayı bir hareketlilik gözlenmiştir. Stanoll örneklerde stanolsüz örneklere göre daha fazla hareketlilik olması stanolün zamanla emülsiye sistemden ayrılmak isteği ve aglomerasyona yönelmesi nedeniyle oluşabilmektedir. Sonuç olarak depolama süresince bütün numunelerde çökme gözlendiği, ancak bu sedimentasyon öncesinde partiküllerin boyutlarının büyüdüğü ve bu büyümenin sedimentasyonun aktivasyonunda çok etkili olduğu gözlenmiştir (şekil 4.26-4.31).

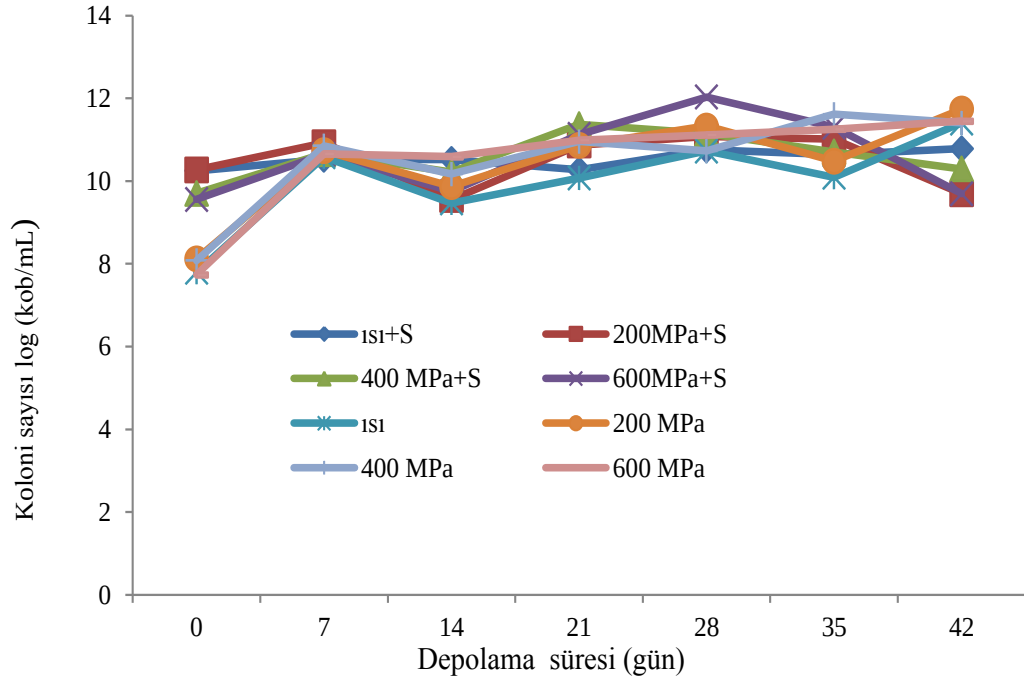
4.12. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu ieeği rneklerinin *Lactobacillus acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama süresince meydana gelen değişim şekil 4.32'de gösterilmektedir. Buna göre, tüm örneklerde *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısı depolama sırasında bir miktar artış göstermiştir. Tüm örneklerde depolamanın başlangıcındaki *Lb. acidophilus* La-5 koloni sayısı 7.63-10.23 log kob/mL arasında değişirken, 42 günlük depolamanın sonucunda bu değerler 10.34-11.83 log kob/mL aralığına yükselmiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.32. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin *L. acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).

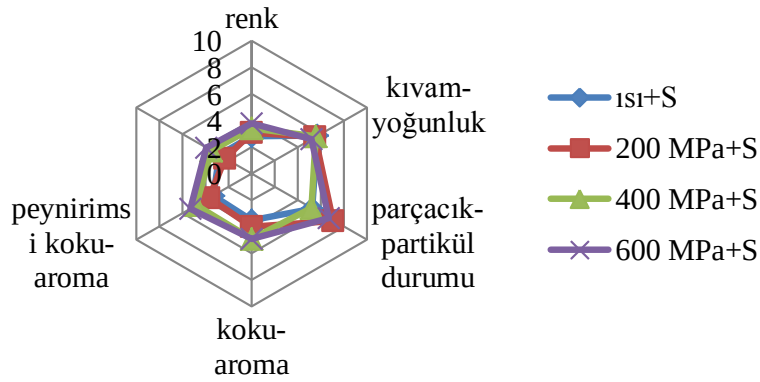
Örneklerin *Lactobacillus casei* Lbc-81 koloni sayılarında depolama süresince meydana gelen değişim ise Şekil 4.33’de sunulmaktadır. *Lb. acidophilus* La-5’e benzer şekilde *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayısında da depolama sırasında bir miktar artış tespit edilmiştir. Tüm örneklerde depolamanın başlangıcında *Lactobacillus casei* Lbc-81 koloni sayısı 7.73-10.27 log kob/mL arasında değişmekte iken, depolamanın sonunda bu değerler 9.69-11.74 log kob/mL aralığına yükselmiştir. İlave edilmiş olan nutrasötik bileşenin (stanol) depolama süresince probiyotik bakteri sayısı üzerine pek etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Depolama periyodunun sonunda tüm örneklerde *Lb. acidophilus* La-5 ve *Lb. casei* Lbc-81 koloni sayıları minimum terapötik etki seviyesinin üzerinde yer almıştır ($p>0.05$).



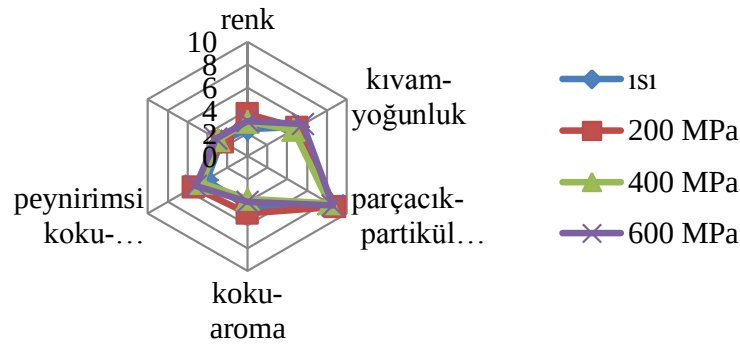
Şekil 4.33. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin *L. casei* Lbc-81 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).

4.13. Duyusal Analiz Sonuçları

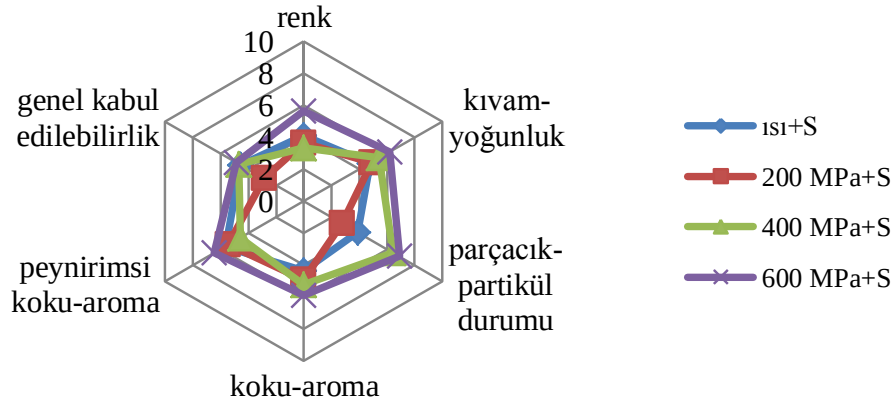
Duyusal analizlerde panelistler tarafından 9 farklı değerlendirme kriteri (renk, kıvam-yoğunluk, parçacık-partikül durumu, koku-aroma, peynirimsi koku-aroma, tat, yağimsı tat, ağızda bıraktığı his, genel kabul edilebilirlik) için puanlama yapılmıştır. Panelistler 42. gün duyusal analizleri esnasında içeceklerde ekşimsi bir tat-aromanın varlığından söz etmişlerdir. Bu sebeple panelistler 42. gün duyusal analizlerinde ürünü tatmamışlardır ve diğer 6 kritere puan vermişlerdir. Bu nedenle 42. gün duyusal analiz sonuçlarında toplamda 9 kriter için puanlama yapılamadığından, duyusal analiz grafiklerinde bu üç kritere yer verilmemiştir. Stanol ilavesinin duyusal analizlere etkisini net görebilmek için stanol ilave edilmiş ve stanol ilave edilmemiş örneklerin grafikleri ayrı verilmiştir.



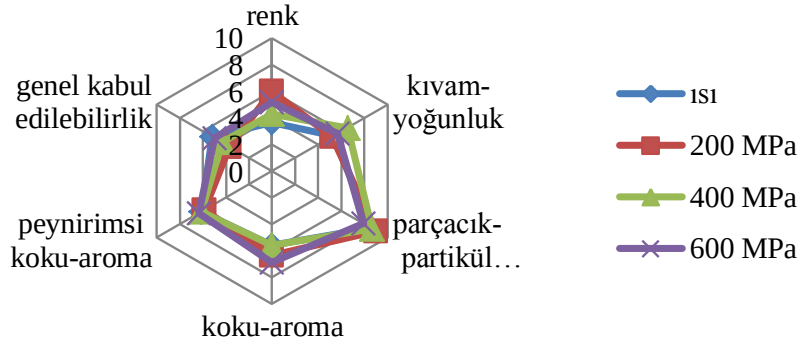
Şekil 4.34. Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin başlangıcında (0. gün) duyuşal değerlendirme sonuçları.



Şekil 4.35. Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin başlangıcında (0. gün) duyuşal değerlendirme sonuçları.



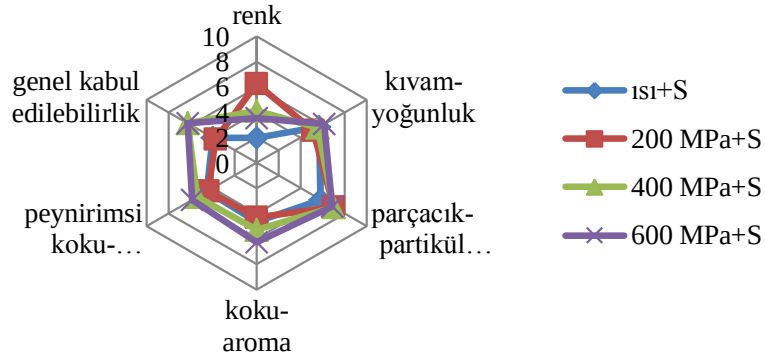
Şekil 4.36. Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin ortalarında (21. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.



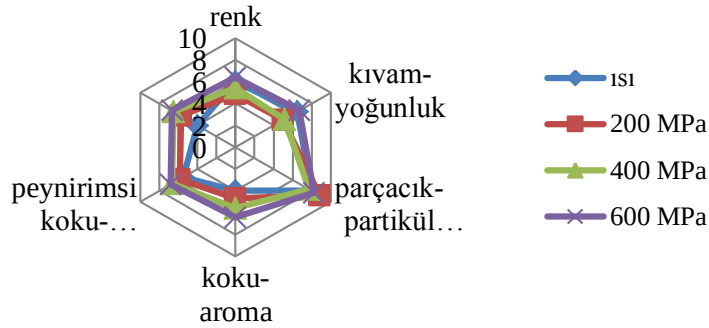
Şekil 4.37. Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin ortalarında (21. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.

Yapılan duyusal değerlendirmelerde depolamanın başlangıcında örnekler arasında bariz bir farklılık görülmemektedir. Stanol ilave edilmiş ve stanol ilave edilmemiş örneklerin arasında da önemli bir fark tespit edilmemiş olup tüm örnekler oldukça yakın puan almışlardır ($p>0.05$) (şekil 4.34-4.35).

Depolama süresinin ortasında (21. gün) geręekleřtirilen duyusal analiz sonuçlarına göre örnekler arasında bazı değerlendirme kriterleri açısından az da olsa fark tespit edilmiştir. Genel kabul edilebilirlik açısından en yüksek puanları sırasıyla 600 MPa, 600 MPa+S, 400 MPa+S ve ısı örnekleri almışken, en düşük puanları ise 200 MPa ve 200 MPa+S örnekleri almıştır. Grafikte yer verilmemiş olan tat ve ağızda bıraktığı his değerlendirme kriterleri açısından ise en yüksek değerleri sırasıyla 600 MPa, 600 MPa+S almış olup, 400 MPa, 400 MPa+S, ısı ve ısı+S örnekleri de oldukça yakın değerler almıştır. Kıvam-yoğunluk ve koku-aroma kriterleri için tüm örnekler benzer puanlar almıştır. Panelistler, parçacık-partikül durumu açısından stanollü ve stanolsüz örneklere karışık bir şekilde puan vermişlerdir. Parçacık-partikül durumu en az olan 200 MPa+S örneğiyken en fazla olan ise 200 MPa örneği seçilmiştir. Panelistlerin stanolün varlığını pek ayırt edemediği ve stanolün varlığından ötürü oluşabilecek partiküllerin önemli bir seviyede olmadığı gözlenmiştir (şekil 4.36-4.37).



Şekil 4.38. Stanol ilave edilmiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin sonunda (42. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.



Şekil 4.39. Stanol ilave edilmemiş aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin sonunda (42. gün) duyusal değerlendirme sonuçları.

Depolamanın son gününde (42. gün) yapılan duyusal analizler sonucunda ise, genel kabul edilebilirlik ve koku-aroma açısından en yüksek değerleri 600 MPa, 600 MPa+S, 400 MPa, 400 MPa+S almış ve değerlerinin birbirlerine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Genel kabul edilebilirlik açısından depolamanın sonunda en düşük değeri 200 MPa+S almış olup, ısı örneklerinin almış olduğu değerler ile oldukça yakındır. Depolamanın son günü kıvam-yoğunluk kriterleri açısından tüm örnekler benzer puanlar almıştır.

Renk kriteri için stanol ilave edilmiş ve stanol ilave edilmemiş olan örnekler kıyaslandığında stanol ilave edilmemiş olan örnekler genel olarak biraz daha yüksek puanlar almıştır. Panelistler yine partikül durumu kriteri için stanol ilave edilmiş ve stanol ilave edilmemiş örneklere benzer puanlar vermişler ve stanolün varlığından oluşabilecek partikülleri ayırt edememişlerdir (Şekil 4.38-4.39). Duyusal analiz sonucunda elde edilen puanlara göre yüksek hidrostatik basınç ile proses edilen örnekler ısıl işlem uygulanan örneklere göre daha iyi bulunmuş, yüksek hidrostatik basınçla proses edilmiş örnekler ısı örneklerine kıyasla daha tüketilebilir olarak nitelendirilmişlerdir.

BÖLÜM 5. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Peynir endüstrisinin yan ürünü olan ve ülkemizde sınırlı sayıda kullanım alanı bulunan peyniraltı suyu genel olarak ya süt tozuna işlenmekte ya da atık su sistemine verilerek deşarj edilmektedir. Yüksek protein ve mineral içeriğinden dolayı peyniraltı suyunun farklı ürün formülasyonlarında kullanılmaması gerek besinsel gerekse ekonomik açıdan kayıplar yaşanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, peyniraltı suyu kullanılarak yeni ürünlerin formüle edilmesi gerekmektedir. Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı bu tez kapsamında peyniraltı suyu kullanılarak geliştirilen fonksiyonel peyniraltı suyu içeceği baz alınarak aromalı fonksiyonel bir ürün geliştirilmiş (Seyhan, 2012a) ve bu ürün ısıtma işlem ve yüksek hidrostatik basınçla (YHB) proses edilerek raf ömrü süresince ürünün fiziksel kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin ölçümü hedeflenmiştir.

Peyniraltı suyu içeceği üretiminde nutrasötik bileşen olarak bitkisel stanol kullanılmış ve stanol konsantrasyonu %0.0 ve %1.00 (w/v) olarak belirlenmiştir. Stanol ilavesinden sonra, farklı oranlarda stabilizatör eklenmiş fakat ön denemeler sonucunda %0.7 (w/v) oranında stabilizatör ilavesine karar verilmiştir. Ürünün aroma ve renginin geliştirilmesi amacıyla farklı aroma ve renk maddeleri denenmiş ve yapılan ön duyuşsal değerlendirmelerde en çok çilek aroması en az çikolata aroması beğenilmiş, dolayısıyla çilek aroması kullanılarak ürünün son formülasyonu belirlenmiştir. Buna göre 100 mL peyniraltı suyu içeceği için 75 µL/100 mL çilek aroması eklenmesi uygun bulunmuştur. Daha sonra renk maddesi (20 µL/100 mL) ve

şeker (%3) ilavesi yapılmış ve örnekler YHB (200 MPa-5 dk, 400 MPa-5 dk ve 600 MPa-5 dk) ve ısı (85 °C-15 dk) grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Isı veya YHB ile proses edilen örnekler *L. acidophilus* ve *L. casei* ile inoküle edilerek 37 °C’de pH 4.8’e gelene kadar (yaklaşık 18 saat) inkübasyona bırakılmış ve daha sonra 4 °C’de 42 gün süre ile depolanmıştır.

Depolama boyunca yapılan analizlerde bütün örneklerin pH, titrasyon asitliği, su aktivitesi, renk L, a ve b, ΔE ve hue değerlerinde depolama süresinden dolayı önemli bir değişim meydana gelmemiştir ($p>0.05$). Örneklerin niteliğine bağlı olarak stanol eklenmiş veya eklenmemiş örneklerde veya farklı koşullarda proses edilmiş örneklerde ölçülen özelliklerde farklılıklar varsa dahi bu farklılıklar depolama şartlarından fazla etkilenmemiştir. Örneklerin reoloji sonuçlarına bakıldığında artan kayma oranına karşı genel olarak örneklerde fazla bir değişim gözlenmezken bazı örneklerde münferit olarak viskozitenin azaldığı gözlenmiştir. Genel olarak bazı örneklerin depolama süresince zeta potansiyellerinde artış gözlenmesinin dışında diğer örneklerin zeta potansiyeli ve iletkenliklerinde önemli bir değişim olmamış, partikül boyutlarında ise örnekler arasında belirli bir partikül büyüklüğüne sahip oranlarda (%10, 20, 50, 80 ve 90) çok büyük farklılıklar görülmemiştir. Stanol eklenmiş ve eklenmemiş örneklerin FT-IR profili stanol içeriğinden dolayı çok az miktarda farklılık göstermekle beraber uygulanan basınç ve depolama süresi genel olarak örneklerin FT-IR profilinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Metal iyon içeriği açısından incelendiğinde bütün örneklerde genel olarak sodyum, fosfor, magnezyum, potasyum ve kalsiyum oranlarının çok yüksek olduğu gözlenmiştir. Bazı metal iyonlarının miktarı prosesle birlikte artarken bazılarında ise azalma gözlenmiştir. SDS-PAGE analizlerinde ise genel olarak 400-600 MPa basınç uygulaması ve ısı uygulama kazeinler ve serum proteinleri üzerinde benzer etkiler

yaratmıştır. 0. ve 42. günler arasında elektroforetik değişim ya da yüksek basınç uygulanan örneklerde zamana bağlı bir renatürasyon gözlenmemiştir. Bu durum örnekler arasında pH değerleri değişiminin sınırlı olması ile de uyumlu bulunmuştur. Duyusal analizlerde genel olarak örnekler arasında önemli bir farklılık bulunmazken 42. günde panelistler ekşi bir aromanın varlığından bahsetmişler ve bu nedenle 42. gün örneklerini değerlendirirken tadına bakmamışlardır. Duyusal analizler 42. günde sonlandırılmıştır. Depolamanın sonunda genel olarak ısı ile proses edilen örnekler ve 200 MPa basınç ile proses edilen örnekler daha düşük duyusal puanlar almışlardır. Mikrobiyel analizlerde ise depolama süresi boyunca inoküle edilen *L. acidophilus* ve *L. casei* sayılarında önemli bir değişim gözlenmemiş, bakteri sayıları başlangıçtaki sayılara benzer seviyede kalmıştır.

Sonuç olarak; uygun şartlarda ve oranda (%0.0 veya %1.0) stanol ve (%0.7) stabilizatör, aroma, renk maddesi ve şeker ilavesi ile geliştirilen aromalı fonksiyonel fermente peyniraltı suyu içeceği üretiminin ısı veya farklı seviyelerde YHB ile prosesinin mümkün olduğu ve bu ürünün 4 °C’de depolaması sonucunda 35 güne kadar raf ömrünü uzatmanın mümkün olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu tez projesi kapsamında yapılan çalışmalar gerek peyniraltı suyundan yeni bir ürün üretimi gerekse bu ürünün yenilikçi teknolojilerle prosesi ve ürünün depolama boyunca karakterize edilmesi açısından önem taşımaktadır.

Peyniraltı suyu kullanılarak geliştirilen ürünler gıda sanayi açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle benzer ürünlerde yapılacak olan çalışmalar bu ürünlerin ticarileşmesine katkı sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

- Akalın, S., Gönç, S., ve Senderya, S. 2000. Probiyotik süt ürünleri ve prebiyotikler. VI. Süt ve Süt Ürünleri Senpozyumu (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), Tebliğler Kitabı Rebel Yayıncılık. 29-38.
- Alpkent, Z. ve Göncü, A. 2003. Peynir suyu ve peynir suyu proteinlerinin gıda, kozmetik ve tıp alanlarında kullanımı. TMMOB GMO Gıda Mühendisliği Dergisi, 15: 26-30.
- Allen, N. D. and de Wees, A. 1997. Sports drinks and the glycemic index. www.anndeweessallen.com/dal_ra05.htm. 1997-2002.
- Anderson M. D. and Gilliland S. E. 1999. Effect of fermented milk (yoghurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. Journal of the American Collage of Nutrition, 18 (1): 43-50.
- Anderson, G. H., Moore, S. E. 2004. Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans. The Journal of Nutrition, 134 (4): 974-979.
- Anonim, 2001. Do it with dairy. DMI. Whey. p. 1-3. www.doitwithdairy.com/infolib/ingspecsheet/factwhey.htm (Erişim tarihi 2 Ekim 2012).
- Anonim, 2007. Functional foods. [Internet document] URL <http://www.justfood.com/store/product.aspx?id=47652> (Erişim tarihi 1 Eylül 2009).
- Anonim, 2013. <http://biyokure.org/ornek-hazirlama-ir-spektroskopisi-icin/5698> (Erişim tarihi 3 Ocak 2013).
- Ault, A. 2002. Panel examining water, sports drinks and health. ABCNEWS. Reuters News Service, 2002. July 15, 2002.
- Baily, R. 1999. Foods for specified health use (FOSHU) as functional foods in Japan. Canadian Chemical News, May 18–19.

Belem, M. A. F. 1999. Application of biotechnology in the product developments of nutraceuticals in Canada. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 101-106.

Bengmark, S., García de Lorenzo, A., Culebras, J. M. 2001. Use of pro-, pre- and synbiotics in the ICU-future options. *Nutricion Hospitalaria*, 16 (6): 239-256.

Best, M. M., Duncan, C. H., Van Loon, E. J., Wathen, J. D. 1954. Lowering of serum cholesterol by the administration of a plant sterol. *Circulation*, 10: 201-206.

Beucler, J. L. 2004. Design of a thirst quenching beverage from whey permeate. A thesis submitted to the graduate Faculty of North Carolina State University. NC, USA.

Blair, S. N., Capuzzi, D. M., Gottlieb, S. O., Nguyen, T., Morgan, J. M., Cater, N. B. 2000. Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy. *The American Journal of Cardiology*, 86: 46–52.

Blomqvist, S. M., Jauhiainen, M., van Tol A, Hyvönen, M., Torstila, I., Vanhanen, H. T., Miettinen, T. A., Ehnholm, C. 1993. Effect of sitostanol ester on composition and size distribution of low- and high-density lipoprotein. *Nutrition and Metabolic Cardiovascular Disease*, 3: 158–164.

Buckow, R. 2006. Pressure and temperature effects on the enzymatic conversion of biopolymers. Doctorate thesis, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering, Berlin, Germany.

Champagne, C. P. and Mollgaard, H. 2008. Production of probiotic cultures and their addition in fermented foods. In *Handbook of Fermented Functional Foods*, p. 513–532. Farnworth E R, ed. Boca Raton: CRC Press.

Champagne, C. P. 2009. Some technological challenges in the addition of probiotic bacteria to foods. In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, p. 761–804. Charalampopoulos D, Rastall D, eds. New York: Springer.

Cheftel, J.C., Culioli, J. 1997. Effects of high pressure on meat: A Review. *Meat Science*, 46 (3): 211-236.

Crehan, C. M., Troy, D. J., Buckley, D. J. 2000. Effects of salt level and high hydrostatic pressure processing on frankfurters formulated with 1.5 and 2.5% Salt. *Meat Science*, 55: 123–130.

Cribb, P. J. 2005. U.S. whey proteins in sports nutrition. US Dairy Export Council, 3 (4): 1-12.

Crowley, L. 2008. Danisco meets growing South American demand for probiotics. [Internet document] URL [http:// www.nutraingredients-usa.com/Industry/Danisco-meetsgrowing- South-American-demand-for-probiotics](http://www.nutraingredients-usa.com/Industry/Danisco-meetsgrowing-South-American-demand-for-probiotics) (Erişim tarihi 25/08/2009).

Committee on Opportunities in the Nutrition and Food Sciences FaNBioM. 1994. Opportunities in the Nutrition and Food Sciences: Research Challenges for the Next Generation of Investigators. Washington, DC: National Academy Press.

Datta, N., Deeth, H. C. 1999. High pressure processing of milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*, 54: 41-48.

de Roos, N. M. and Katan, M. B. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: A review of papers published between 1988 and 1998. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 405–411.

DPT. 2001. Sekizinci beş yıllık kalkınma planı gıda sanayii özel ihtisas komisyonu raporu, Ankara, 40-61 s.

Djuric, M., Caric, M., Milanovic, S., Tekic, M., Panic, M. 2004. Development of whey based beverages. *European Food Research and Technology*, 219: 321-328.

Earnshaw, R. 1996. High pressure food processing. *Nutrition & Food Science*, 96(2): 8–11.

Field, F. J., Mathur, S. N. 1983. β -sitosterol: esterification by intestinal acylcoenzyme A:cholesterol acyltransferase (ACAT) and its effect on cholesterol esterification. *Journal of Lipid Research*, 24: 409-417.

Fletcher, A. 2006. Chr Hansen expands US dairy cultures production. [Internet document] URL [http://www.dairyreporter.com/Industry-markets/Chr-Hansen-expands-US-dairycultures- production](http://www.dairyreporter.com/Industry-markets/Chr-Hansen-expands-US-dairycultures-production) (Erişim tarihi 20/08/2009).

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.

Gagada, T. H., Mutukumira, A. N., Narvhus, J. A. and Feresu, S. B. 1999. A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*, 53: 1–11.

Ganjam, L. S., W. H. Thornton, Jr., R. T. Marshall and R. S. MacDonald. 1997. Antiproliferative effects of yogurt fractions obtained by membrane dialysis on cultured mammalian intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 80: 2325 - 2329.

Garriga, M., Grèbol, N., Aymerich, M. T., Monfort, J. M., Hugas, M. 2004. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 451–457.

German, J. B., C. J. Dillard and R. L. Walzem. 2001. U.S. Whey products and dairy ingredients for health: A review. May 2000. U.S. Dairy Export Council.

Girsh, L. S. 2001. Us Patent US 2001/0022986 A1.

Gylling, H., Miettinen, T. A. 1999. Cholesterol reduction by different plant stanol mixtures and with variable fat intake. *Metabolism*, 48: 575-580.

Ha, E., Zemel, M. B. 2003. Functional properties of whey, whey components and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 251-258.

Hallikainen, M. A., Sarkkinen, E. S., Uusitupa, M.I.J. 1999. Effects of low-fat stanol ester enriched margarine on concentrations of serum carotenoids in subjects with elevated serum cholesterol concentrations. *European Journal Clinical Nutrition*, 53 (12): 966-969.

Hallikainen, M. A., Sarkkinen, E. S., Uusitupa, M. I. 2000. Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men and women in a dose-dependent manner. *The Journal of Nutrition*, 130: 767–776.

Hallikainen, M. A., Sarkkinen, E. S., Gylling, H., Erkkila, A. T., Uusitupa, M. I. J. 2000. Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched

margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet. *European Journal Clinical Nutrition*, 54: 671–677.

Harper, W. J. 2000. Biological properties of whey components. A review. Chicago, IL: The American Dairy Products Institute, 2000.

Hayaloğlu, A. A. and Özer, B. 2011. Peynir biliminin temelleri. 1. baskı. Sidas Medya Yayınları, İzmir.

Heinz, V. and Knorr, D. 1998. High pressure germination and inactivation kinetics of bacterial spores. In: *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. (Ed.: N.S. Isaacs). The Royal Soc. Chem. Cambridge, UK, p. 436-441.

Hendriks, H. F. J., Weststrate, J. A., van Vliet, T., Meijer, G. W. 1999. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal Clinical Nutrition*, 53: 319-327.

Hu, F. B., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Grodstein, F., Colditz, G. A., and Speizer, F. E. 2000. Trends in the incidence of coronary heart disease and changes in diet and lifestyle in women. *New England Journal of Medicine*, 343: 530–537.

Hugas, M., Garriga, M., Monfort, J. M., 2002. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62: 359–371.

Huppertz, T., Kelly, A. L., Fox, P. F. 2002. Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *International Dairy Journal*, 12: 561-572.

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

Igel, M., Giesa, U., Lutjohann, D., Von Bergman, K. 2003. Comparison of the intestinal uptake of cholesterol, plant sterols and stanols in mice. *Journal Lipid Research*, 44: 533–538.

Jeličić, I., Božanić, R., Tratnik, L. 2008. Whey-based beverages-a new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 58 (3): 257-274.

Karatzas, K. A. G., Bennik, M. H. J. 2002. Characterization of a *Listeria monocytogenes* scott a isolate with high tolerance towards high hydrostatic pressure. Applied and Environmental Microbiology, 68 (7): 3183-3189.

Kalantzopoulos, G. 1997. Fermented products with probiotic qualities. Anaerobe, 3: 185-190.

Katan, M. B., Roos, N. M. 2004. Promises and problems of functional foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 369-377.

Kaur, I. P., Chopra, K., Saini, A. 2002. Probiotic: potential pharmaceutical applications, Europe Journal of Pharmaceutical Science, 15: 1-9.

Klaenhammer, T. R. 2000. Probiotic bacteria: today and tomorrow. The Journal of Nutrition, 130: 4155-4165.

Kneiding, J. 2001. Fresh dairy growing: expert panel reviews top trends. The World of Food Ingredients. January, p. 36-38.

Koca, N. 2011. Peynir üretiminde yüksek basınç uygulamaları. Bölüm 12, s: 325-346. Peynir Biliminin Temelleri. A.A. Hayaloğlu, B. Özer (Ed). Sidaş Medya Ltd. Şti., İzmir.

Koffi, E., Shewfelt, R., Wicker, L. 2005. Storage stability and sensory analysis of UHT processed whey-banana beverages. Journal of Food Quality, 28: 386-401.

Krishnakumar, V., Gordon, I. R. 2001. Probiotics: challenges and opportunities. Dairy Industries International, 66 (2): 38-40.

Kurt, A. 1990. Süt teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No 573, 398 sayfa.

Larkin, T. A, Astheimer, L. B, Price, W. E. 2009. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. European Journal Clinical Nutrition, 63: 238-45.

Larsen, W. P., Hartzell, T. B. and Diehl, H. S. 1918. The effects of high pressure on bacteria. Journal of Infective Diseases, 22: 271-279.

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

Leatherhead Food International. 2011. Long may the growth in functional foods continue. <http://www.leatherheadfood.com/long-may-the-growth-in-functional-foods-continue> (Erişim tarihi 5 Kasım 2012).

Lees, A. M., Mok, H. Y. I., Lees, R. S., McCluskey, M. A. And Grundy, S. M. 1977. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: Clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. *Atherosclerosis*, 28: 325–338.

Lichtenstein, A. H. and Deckelbaum R. J. 2001. Stanol/Sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels: a statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the council on nutrition, physical activity and metabolism of the american heart association. *American Heart Association*, 103: 1177-1179.

Ling, W. H., Jones, P. J. 1995. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sciences*, 57 (3): 195-206.

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

Lucas, D. O. 1999. Breakthrough technology produces concentrated whey protein with bioactive immunoglobulins. *Clinical Nutrition Insight*, 6 (21): 1-4.

Mark-Herbert, C. 2004. Innovation of a new product category- functional foods. *Technovation*, 24 (9): 713-719.

Marshall, K. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9 (2): 136-156.

Mattson, F. H, Grundy, S. M., and Crouse, J. R. 1982. Optimizing the effect of plant sterols on cholesterol absorption in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 35: 697–700.

McIntosh, G. H., Royle, P. J., Le Leu, R. K., Regester, G. O., Johnson, M. A., Grinsted, R. L., Kenward, R. S., Smithers, G. W. 1998. Whey proteins as functional food ingredients. *International Dairy Journal*, 8: 425-434.

Mehenktaş, C., ve Beyaz, M. 2004. Fonksiyonel gıdalar: önemi ve üretiminde kullanılan teknikler. *Gıda Dergisi*, 29 (5): 367-371.

Metrick, C., Hoover, D. G. and Farkas, D. F. 1989. Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 54: 1547-1564.

Minerich, P. L. and Labuza, T. P. 2003. Development of a pressure indicator for high hydrostatic pressure processing of foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4: 235–243.

Nash, R. A. 1988. Pharmaceutical suspensions. In: Liebermann, H. A., Rieger, M. M. and Banker G. S. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems (Vol.1)* NewYork and Basel: Merker Dekker Inc., pp. 151-198.

Niinikoski, H., Viikari, J., Palmu, T. 1997. Cholesterol-lowering effect and sensory properties of sitastanol ester margarine in normocholesterolemic adults. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 41: 9-12.

Normén, L., Dutta, P., Lia, A., Andersson, H. 2000. Soy sterol esters and beta-sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 908–913.

Ohlsson, T., Bengtsson, N. 2002. *Minimal processing technologies in the food industry*. Woodhead Publishing Limited. England. p.41.

Ouwehand, A. C., Kirjavainen, P. V., Shortt, C., et al. 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*, 9: 43-52.

Önal, D., Beyatlı, Y., Aslım, B. 2005. Probiyotik bakterilerin epitel yüzeylere yapışması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(9): 1-10.

Özcan, D., Obuz, E. 2006. Yüksek basınç uygulamasının gıda endüstrisinde kullanımı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, Gıda Dergisi*, 675-678.

Özer, B. H., Robinson, R. K, Grandison, A. S.,ve Bell, A. E. 1997. Comparison of techniques for measuring the rheological properties of labneh (concentrated yoghurt). *International Journal of Dairy Technology*, 50 (4): 129-134.

Özer, D., Akın, M. S. 2000. Probiyotik fermente süt ürünleri ve probiyotikler. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), 273-278.

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

Parodi, P. W.1998. A role for milk proteins in cancer prevention. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53: 37-42.

Pasin, G. and Miller, S. L. 2000. U.S. Whey Products and Sports Nutrition. U.S. Dairy Export Council. www.usdec.org/pdf/files/manuals/9SportsNut.pdf. p.1-8.

Pereira, D. I. A., and Gibson, G. R. 2002. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Critical Review Biochemistry Molecular Biology*, 37 (4): 259-281.

Plat, J., van Onselen, E. N., van Heugten, M. M., and Mensink, R. P. 2000. Effects on serum lipids, lipoproteins and fat-soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54: 671– 677.

Plat, J. and Ronald, P. M. 2005. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. *American Journal of Cardiology*, 96: 15-22.

Regester, G. O., McIntosh, G. H., Lee, V. W. K., and Smithers, G.W. 1996. Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. *Food Australia*, 48 (3): 123-127.

Rehberger, B. 2006. Latest research on the health and nutritional benefits of whey protein. *European Dairy Magazine*, 6: 16-18.

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

Rezek Jambrak, A., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., and Ljubic-Herceg, I. 2008. Effect of ultrasound on solubility and foaming properties of whey protein suspensions, *Journal of Food Engineering*, 86: 281-287.

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

Rieger, M. 1986. "Emulsions", *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, (Eds: L Lachman, H Lieberman, J.L Kanig), Lea and Febiger, Philadelphia, p. 502-533.

Roberfroid, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1682S-1687S.

Roberts Jr., W. A. 2002a. Good sports. *Prepared Foods*. August:23, 26, 28.

Roberts Jr., W. A. 2002b. Absolutely FABulous. *Prepared Foods*. April:19-20, 24, 26, 28.

Rodwan, Jr., J. G. 2001. The next new thing: nutrient-enhanced & functional beverages in the U.S. *The World of Food Ingredients*. September: 48:50, 52-53.

Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of Nutrition*, 130: 391-395.

San Martin-Gonzales, M. F., Welti-Chanes, J. and, Barbaso-Canovas, G. V. 2006. Cheese manufacture assisted by high pressure. *Food Review International*, 22: 275-289.

Sanders, M. E. 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 8: 341-347.

Savcıgil, Ü. 2003. Fonksiyonel besinler. *Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu*, 22-23 Mayıs, İzmir. p. 11-18.

Saxelin, M., Corpela, R. and Marya-Makinen, A. 2003. Functional dairy product. In *Dairy Processing*, p. 229–260. (Ed. Smith G.), Cambridge: Woodhead Publishing.

Schrezenmeir, J. and de Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 361–364.

Senorans, F. J., Ibanez, E. and Cifuentes, A. 2003. New trends in food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(5): 507-526.

Seyhan, E. 2012a. Fonksiyonel fermente peyniraltı suyu içeceği üretimi üzerine bir araştırma. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye.

Seyhan, F. 2012b. Bazı *Enterococcus* türlerinin sütte biyoaktif peptid üretme yeteneklerinin belirlenmesi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye.

Shah, N. P. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55 (11): 46-53.

Singh, P. R. and Yousef, A. E. 2001. Technical Elements of new and emerging non-thermal food technologies. <http://www.fao.org/ag/agsi/Nonthermal/nonthermal>

Smelt, J. P. P. M. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 152–158.

Smithers, G. W., Ballard, F. J., Copeland, A. D., De Silva, K. J., Dionysius, D. A., Francis, G. L., Godard, C., Grieve, P. A., McIntosh, G. H., Mitchell, I. R., Pearce, R. J., Regester, G.O. 1996. New oportunities from the isolation and utilization of whey proteins. symposium: advances in dairy foods processing and engineering. *Journal of Dairy Science*. 79:1454-1459.

Smithers, G. W., McIntosh, G. H., Regester, G. O., Johnson, M. A., Royle, P. J., Leu, R. K., Jelen, P. 1998. Anti-cancer effects of dietary whey proteins, In: *Proceedings of the Second International Whey Conference*, International Dairy Federation Publication S.I. 9804, p. 309. Brussels, Belgium: IDF Publications.

Sullivan, A., and Nord, C.E. 2002. The place of probiotics in human intestinal infections, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20 (5): 313-319.

Şanal, İ. S., ve Çalıklı, A. 2000. Yüksek hidrostatik basınç teknolojisi ve gıda endüstrisinde uygulamaları. *Gıda*, 25 (3): 193-201.

Tetik, N., Erbaş, M., Turhan, İ. 2007. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Fitosteroller. *Gıda Dergisi*, (32) 6: 317.

Thomson, C., Block, A. S., Hasler, C. N. 1999. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 99: 1278–1285.

Tok, E., Aslım, B. 2007. Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37 (1): 62-68.

Trujillo, A. J., Capellas, M., Saldo, J., Gervilla, R., Guamis, B. 2002. Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3: 295–307.

TUİK 2011. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=10820> (Erişim tarihi:25.11.2012).

Vaughan, E. E., Mollet, B., M de Vos, W. 1999. Functionality of probiotics and intestinal lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. *Current Opinion in Biotechnology*, 10: 505-510.

Venkatramesh, M., Karunanandaa, B., Sun, B., Gunter, C. A., Boddupalli, S., Kishore, G. M. 2003. Expression of a *Streptomyces* 3-hydroxysteroid oxidase gene in oilseeds for converting phytosterols to phytosteranols. *Phytochemistry*, 62 (1): 39-46.

Wallace, B. 2009. Clinical use of probiotics in the pediatric population. *Nutrition in Clinical Practice*, 24: 50-9.

Walzem, R. D., Rosemary, L. 1999. Health enhancing properties of whey proteins and whey fractions. U.S. Dairy Export Council. www.usdec.org/pdf/files/manuals/7health.pdf. p.1-7.

Weststrate, J. A., Meijer, G. W. 1998. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52: 334–343.

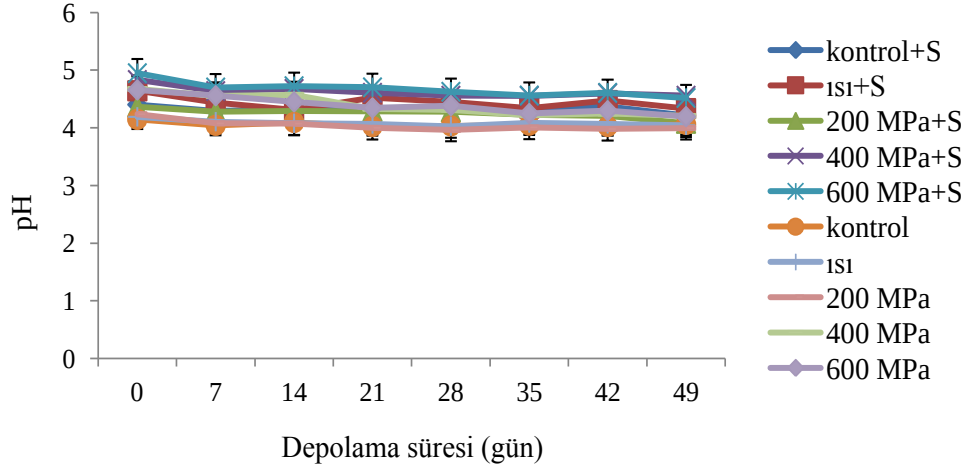
Yemecioğlu, A., Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerle bunlardan elde edilen ürünlerin dayandırılma yöntemleri. *Meyve ve Sebze İşleme Teknikleri I.* (Ed. Cemeroğlu B.) Başkent Kiliş Matbaacılık, 226-227, Ankara.

Yılsay, T. Ö., Kurdal, E. 2000. Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerinde etkisi, VI. Süt ve Süt rnleri Senpozyumu (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), 279-286.

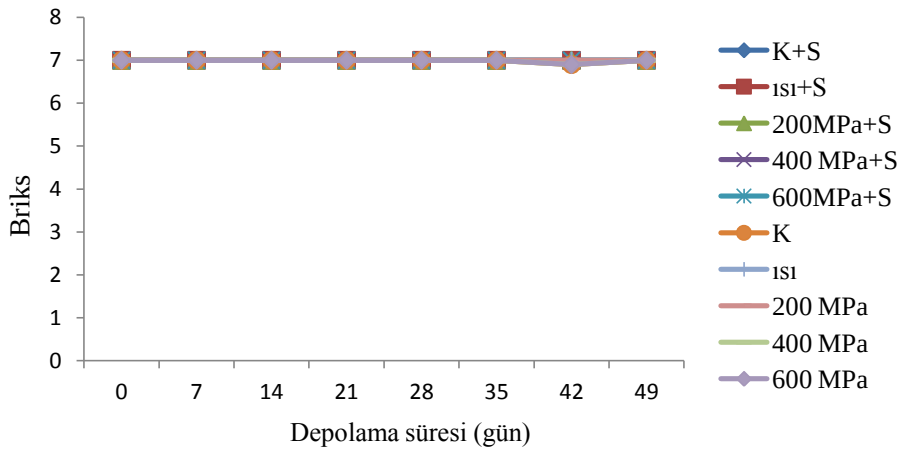
Zhang, X., A. C. Beynen. 1993. Lowering effects of dietary milk-whey protein versus casein on plasma and liver cholesterol concentrations in rats. British Journal of Nutrition, 70: 139-146.

Ziemer, C. J., Gibson, G. R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and symbiotic in the functional food concept: Perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 8: 473-479.

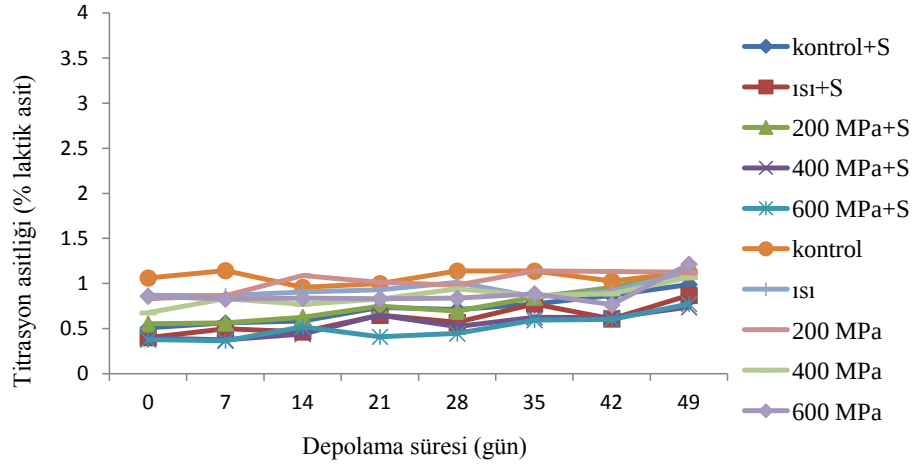
EK BİLGİLER



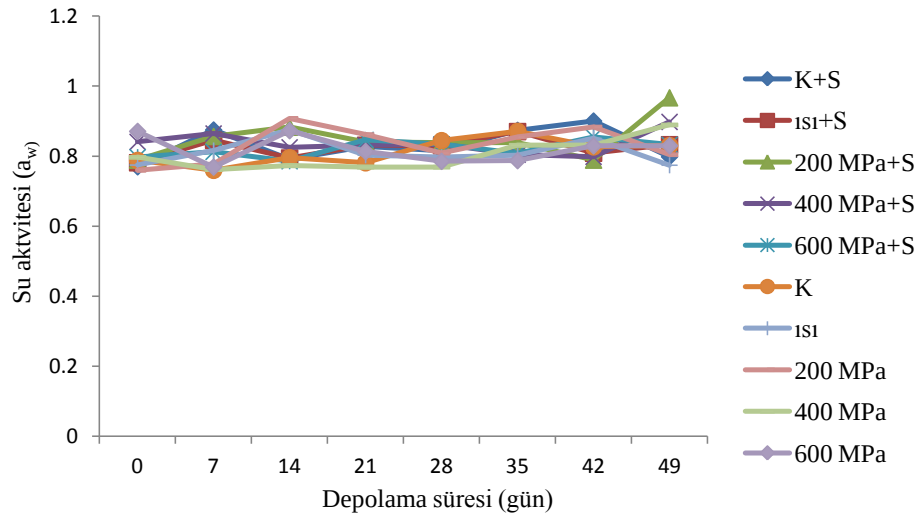
Şekil 1. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca pH değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



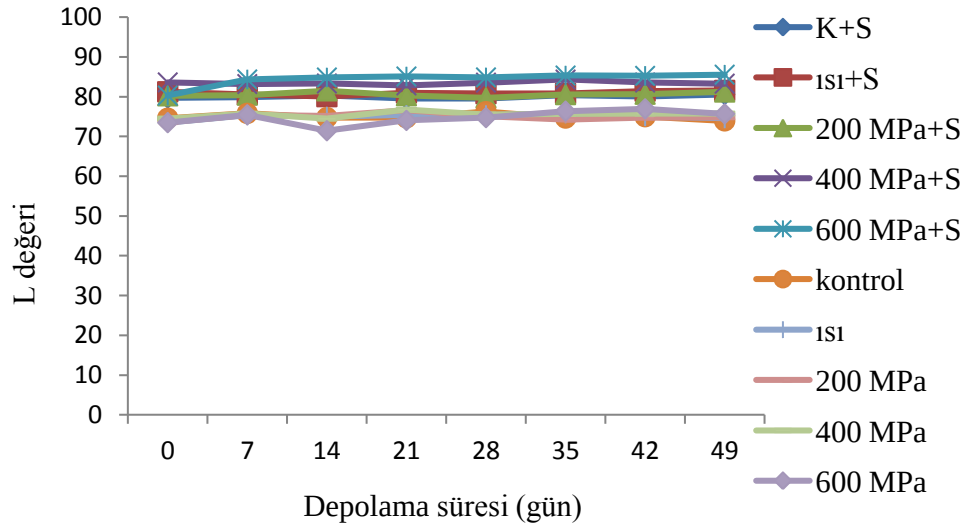
Şekil 2. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca °Briks değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



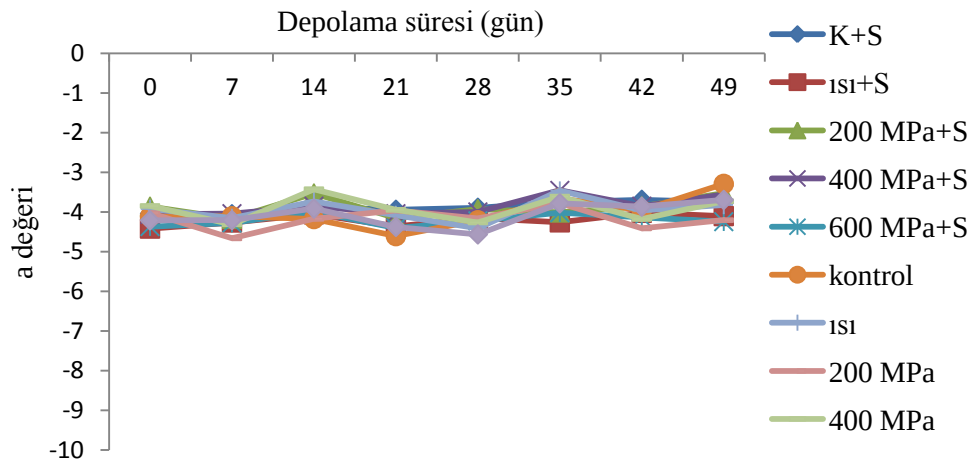
Şekil 3. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi (n=2).



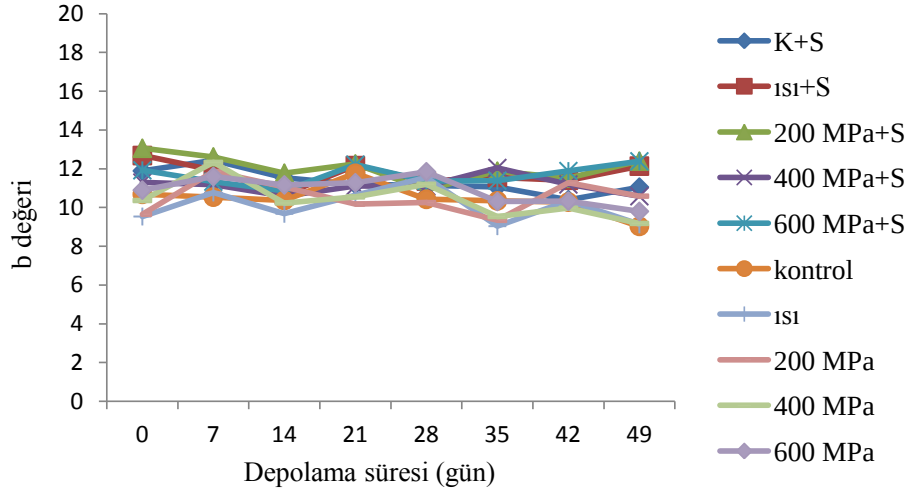
Şekil 4. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca su aktivitesi değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



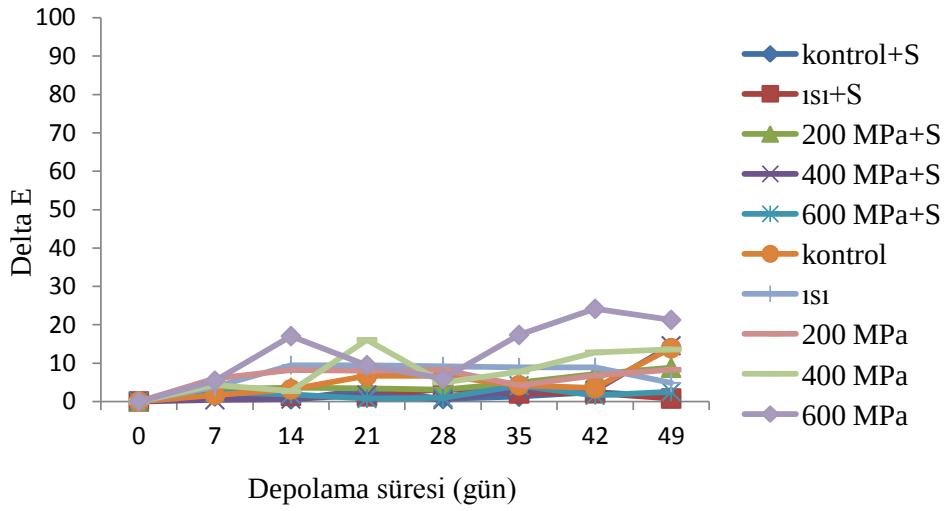
Şekil 5. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca “L” renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



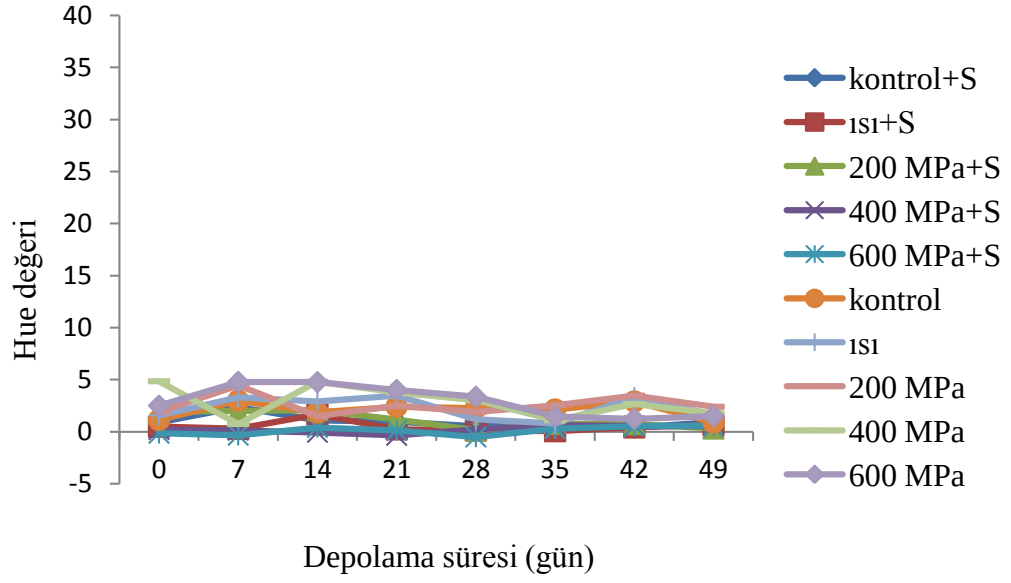
Şekil 6. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca a renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



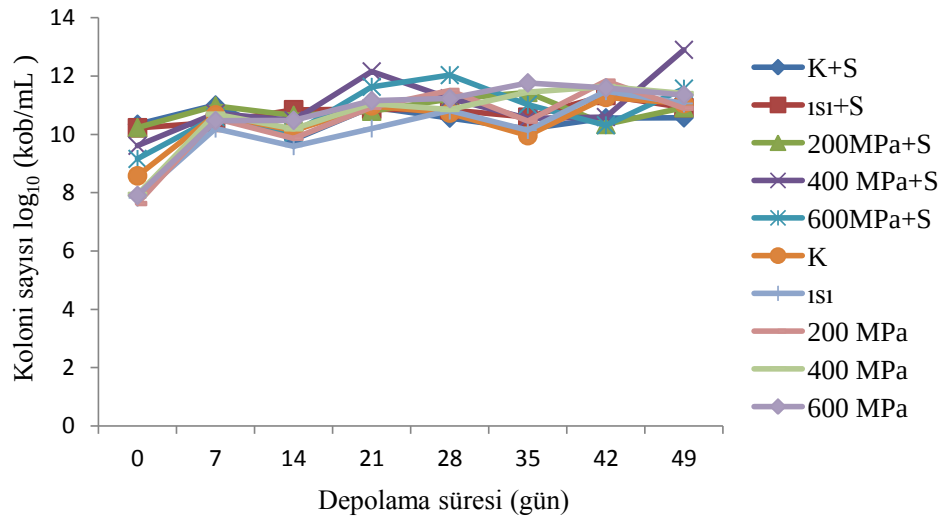
Şekil 7. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca b renk değerlerinde meydana gelen değişim (n=2).



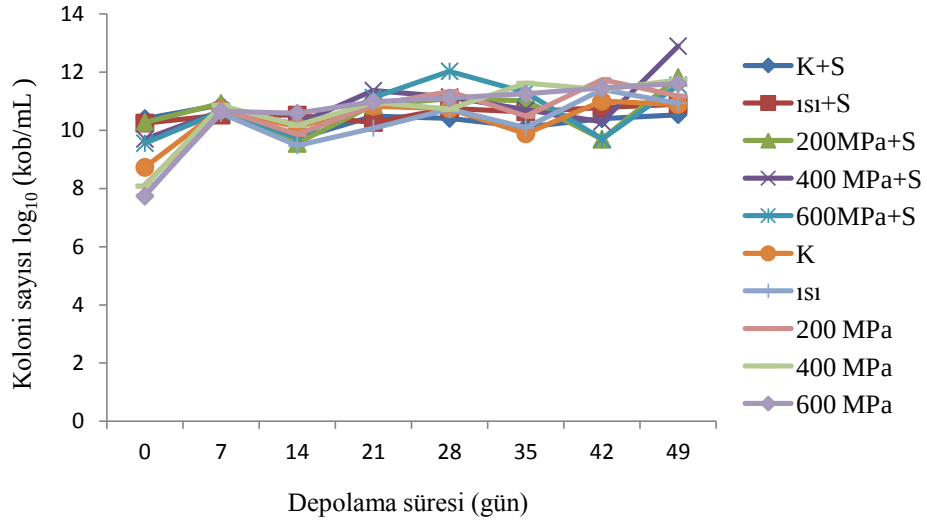
Şekil 8. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca ΔE renk değerlerinde meydana gelen değişim.



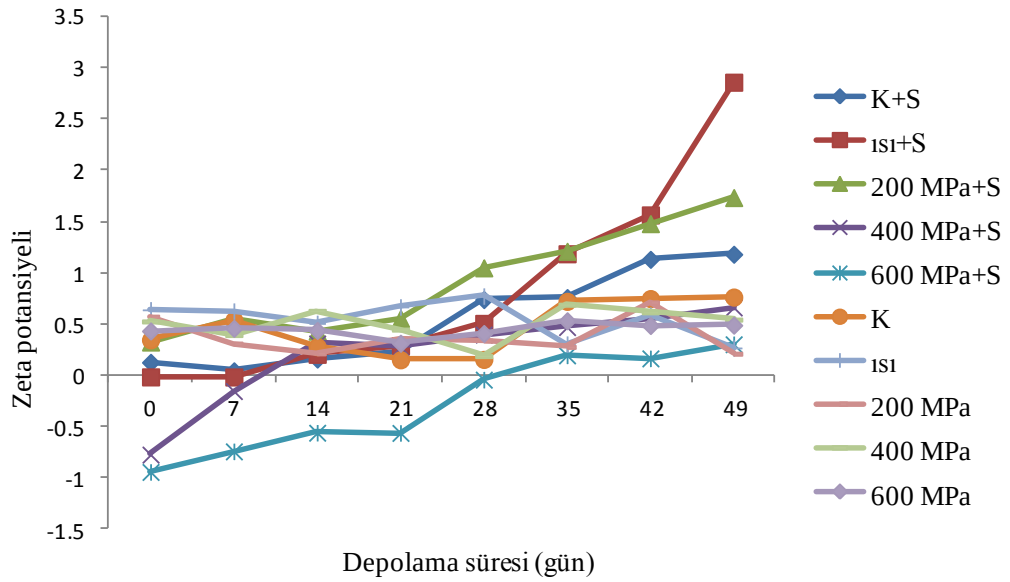
Şekil 9. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca Hue renk değerlerinde meydana gelen değişim.



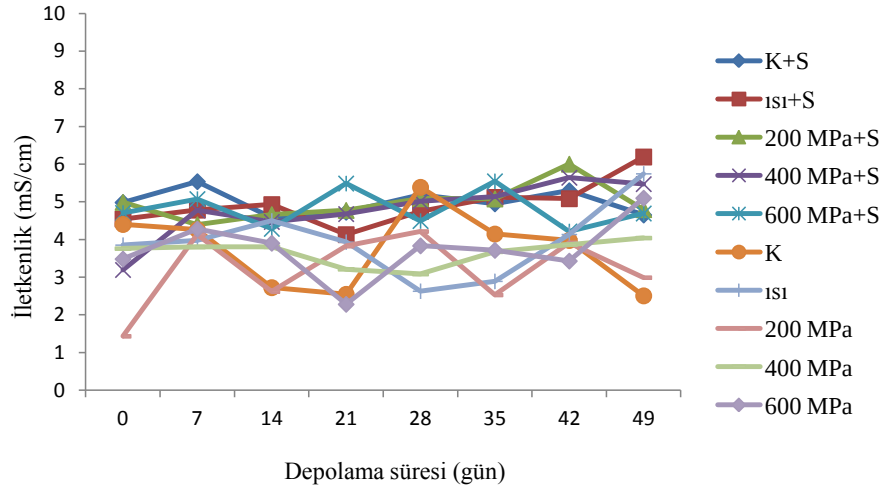
Şekil 10. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin *L. acidophilus* La-5 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).



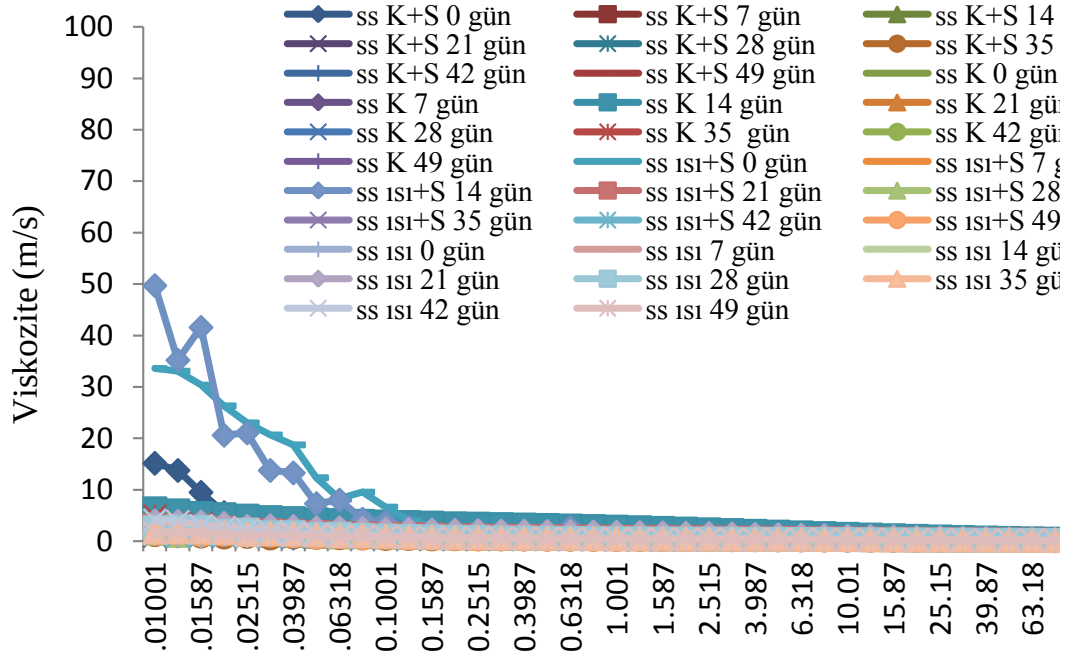
Şekil 11. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin *L. casei* Lbc-81 koloni sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişim (n=4).



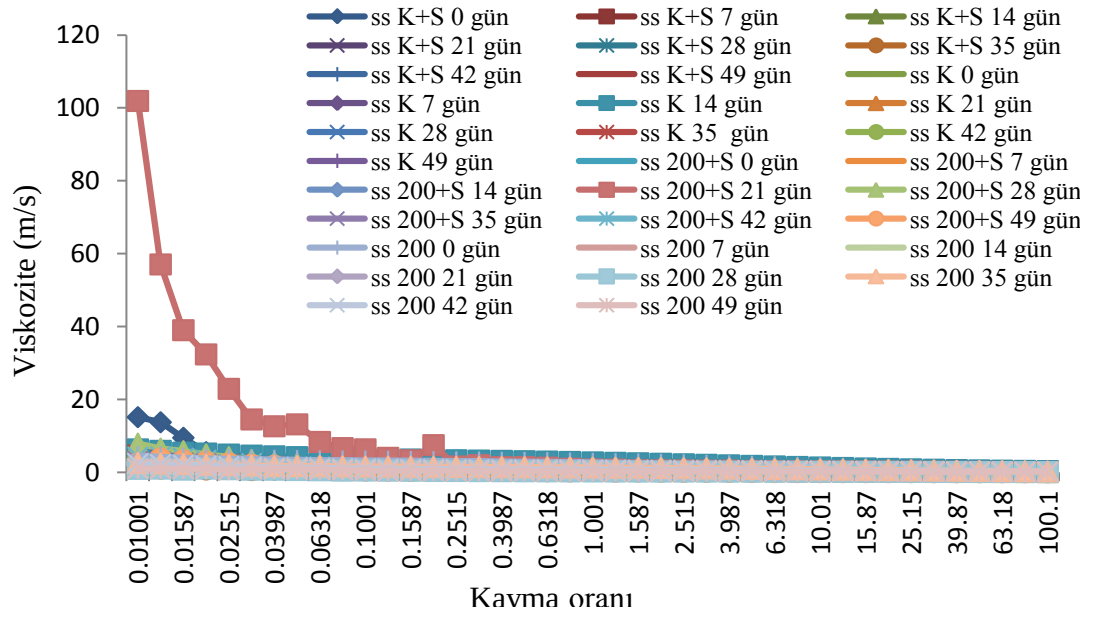
Şekil 12. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca zeta potansiyeli değerlerinde meydana gelen değişim.



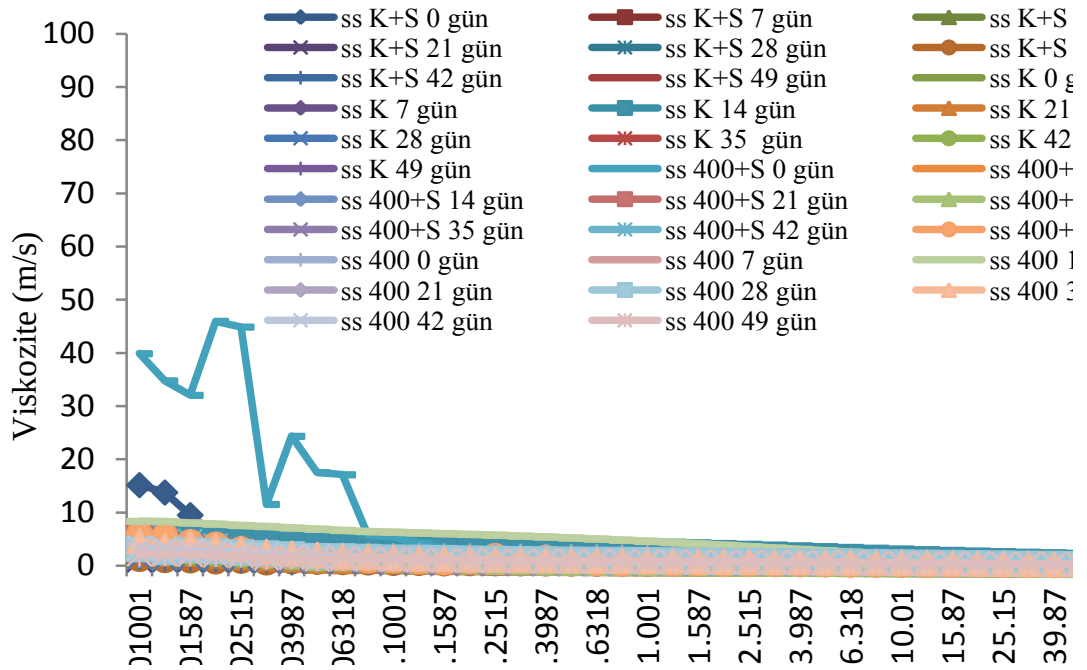
Şekil 13. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca iletkenlik değerlerinde meydana gelen değişim.



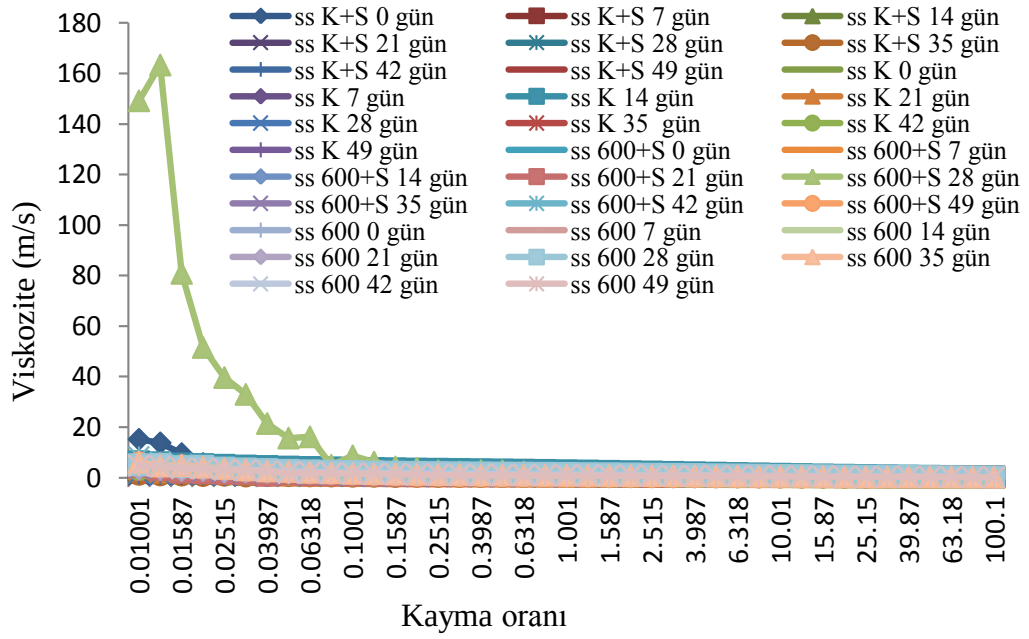
Şekil 14. Kontrol, kontrol+S, ısı ve ısı+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.



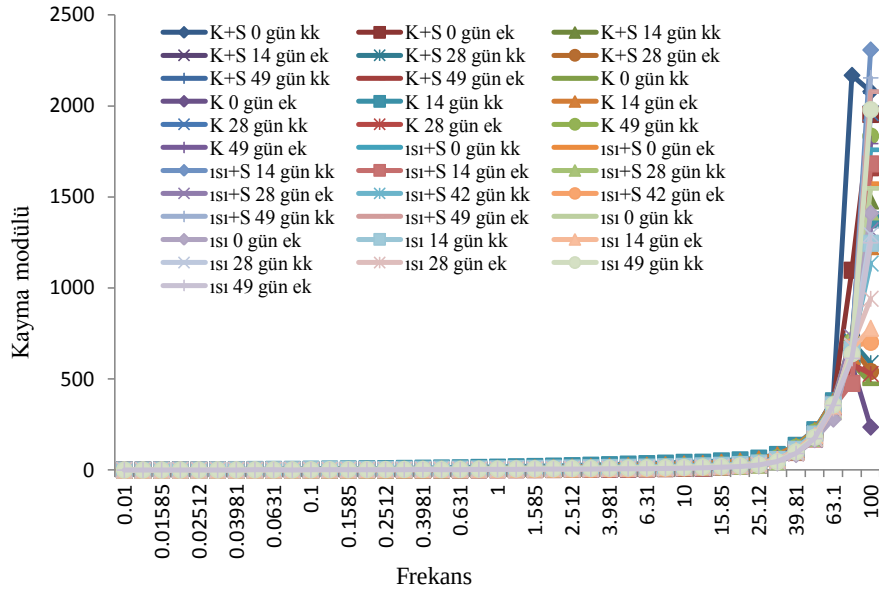
Şekil 15. Kontrol, kontrol+S, 200 MPa ve 200 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.



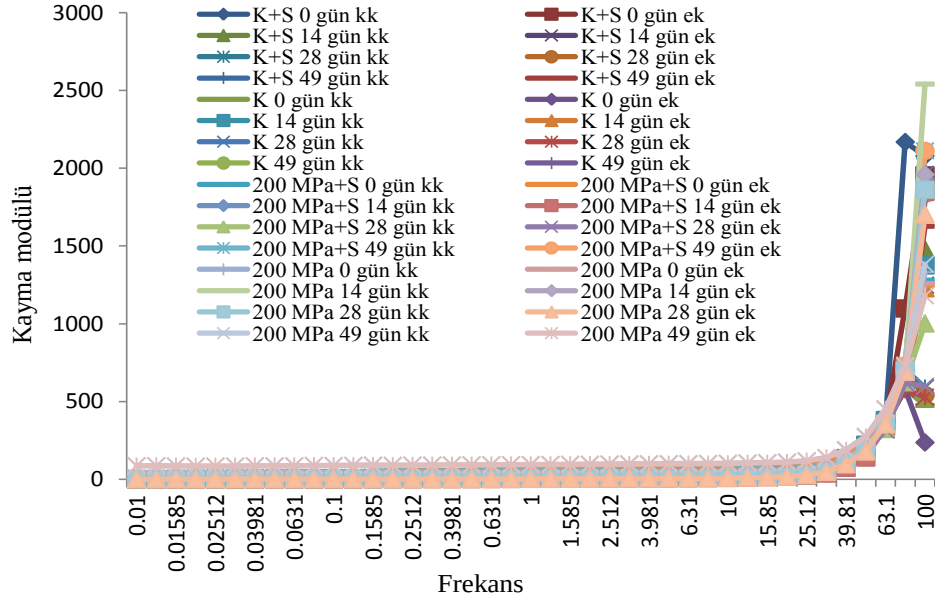
Şekil 16. Kontrol, kontrol+S, 400 MPa ve 400 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.



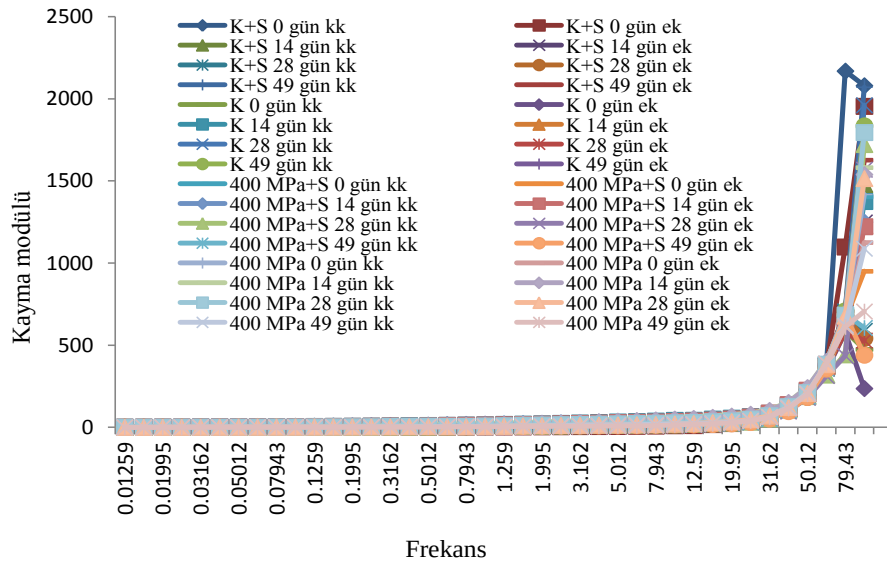
Şekil 17. Kontrol, kontrol+S, 600 MPa ve 600 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca viskozite değerlerinde meydana gelen değişim.



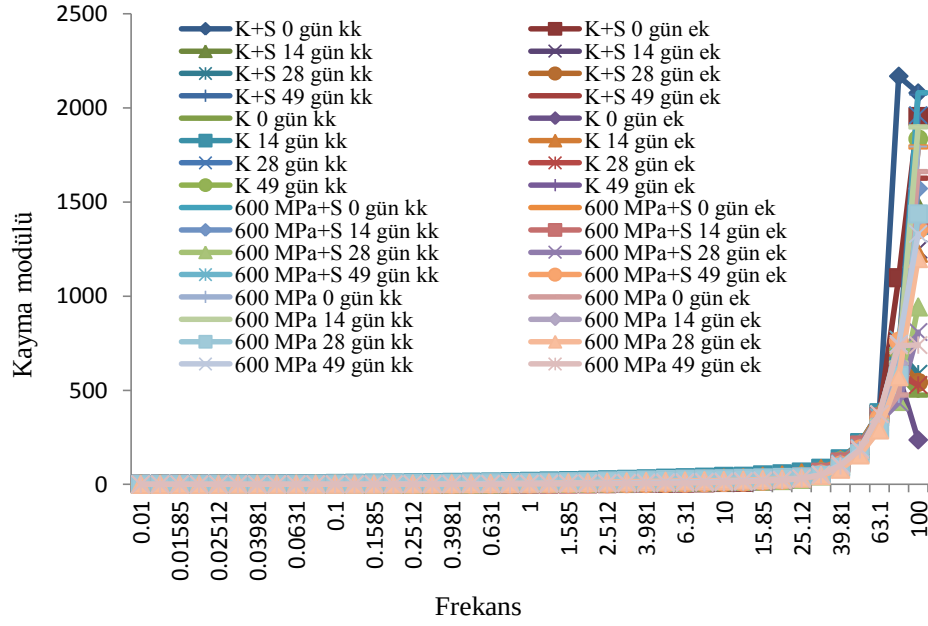
Şekil 18. Kontrol, kontrol+S, ısı ve ısı+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks komponent (kk) ve elastik komponent (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.



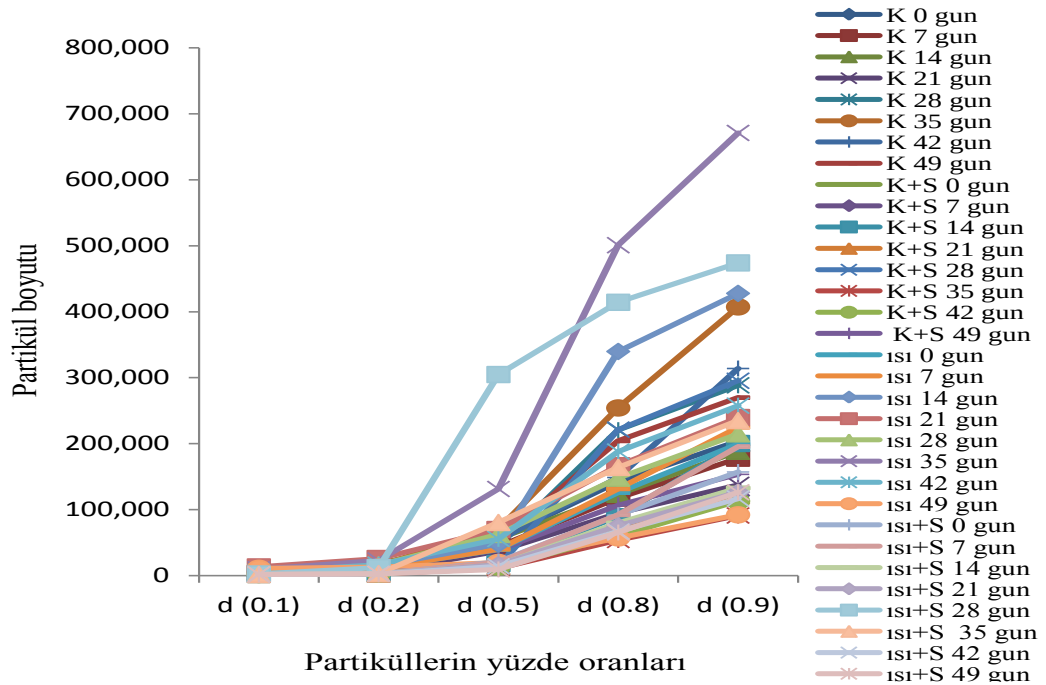
Şekil 19. Kontrol, kontrol+S, 200 MPa ve 200 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks component (kk) ve elastik component (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.



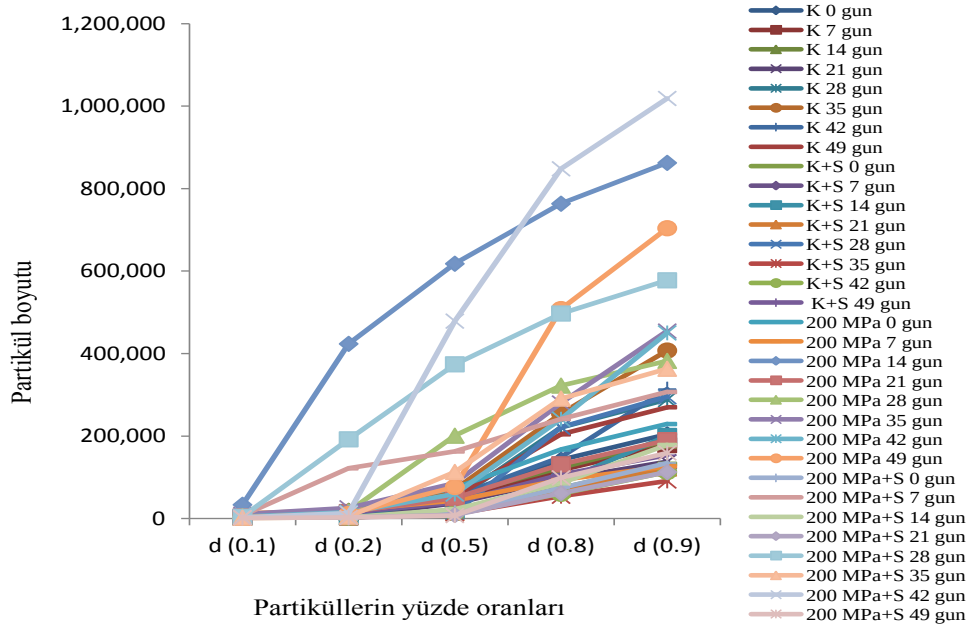
Şekil 20. Kontrol, kontrol+S, 400 MPa ve 400 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks component (kk) ve elastik component (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.



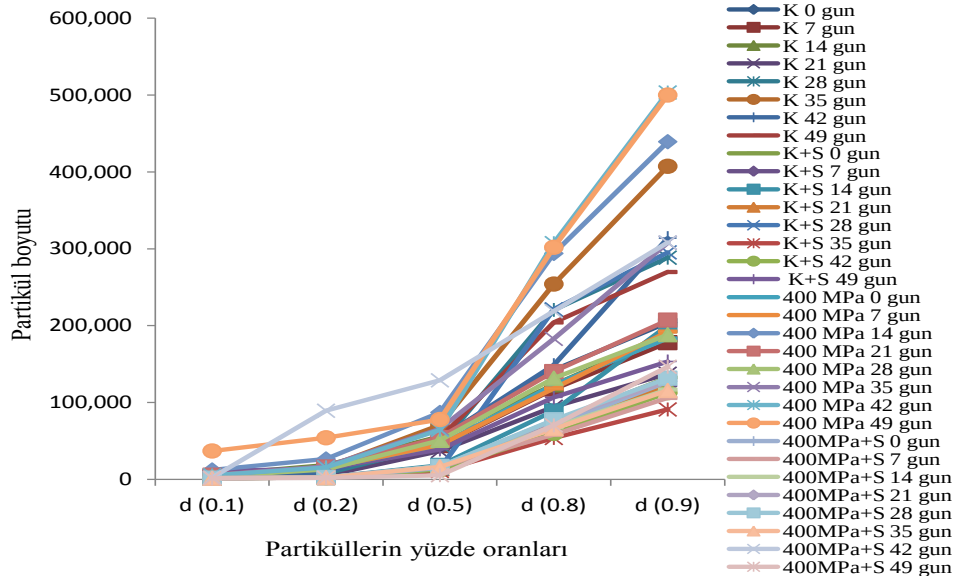
Şekil 21. Kontrol, kontrol+S, 600 MPa ve 600 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca kompleks (kk) ve elastik (ek) kayma modülü değerlerinde meydana gelen değişim.



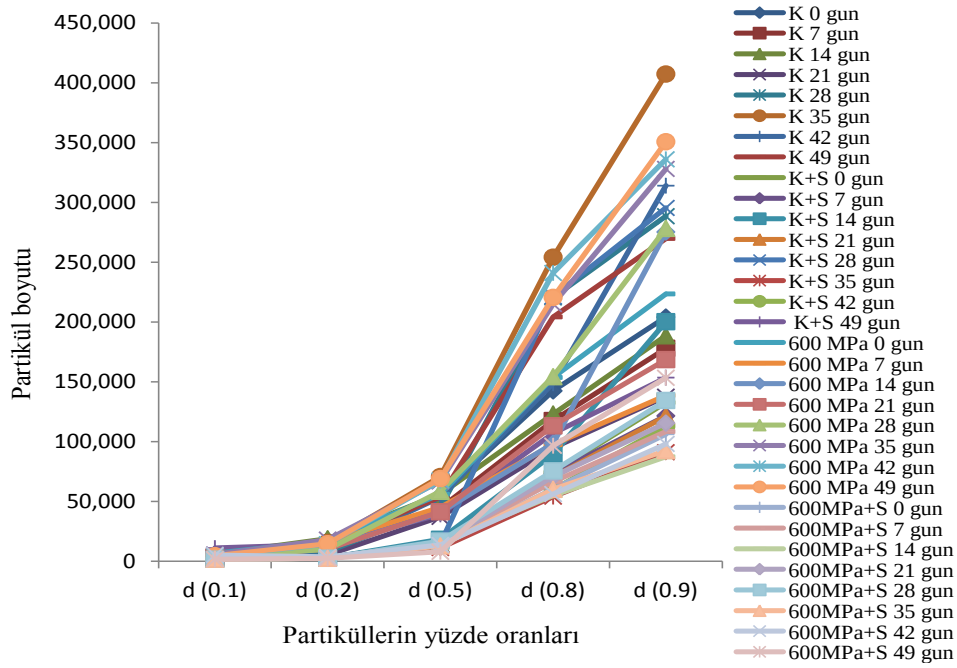
Şekil 22. Kontrol, kontrol+S, ısı ve ısı+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.



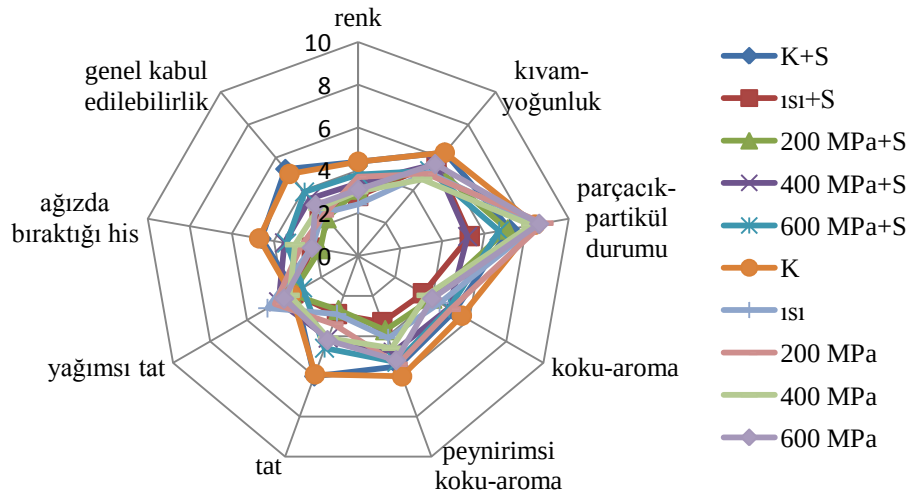
Şekil 23. Kontrol, kontrol+S, 200 MPa ve 200 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.



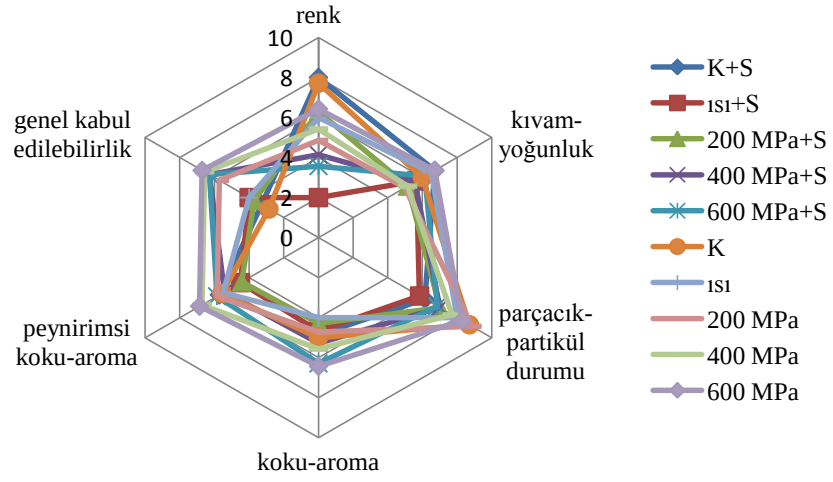
Şekil 24. Kontrol, kontrol+S, 400 MPa ve 400 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.



Şekil 25. Kontrol, kontrol+S, 600 MPa ve 600 MPa+S aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama süresi boyunca partikül boyutu değerlerinde meydana gelen değişim.



Şekil 26. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin başlangıcında (0. gün) duyu değerlendirmesi sonuçları.



Şekil 27. Aromalı fonksiyonel peyniraltı suyu içeceklerinin depolama sürecinin sonunda (42. gün) duyuşal değerlendirme sonuçları.