

## Frükto-oligosakkarit Bile enleri ile *Lactobacillus acidophilus*'un Etkile iminin De erlendirilmesi ve Kar ıla tırılması

Asuman ahin Büyüktortop<sup>1</sup>, Sibel Yi itarslan<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisli i Bölümü, Isparta

<sup>2</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Kimya Mühendisli i Bölümü, Isparta

\*Yazı ılan yazar e-posta: yildizsibel@sdu.edu.tr

Alını : 15 A ustos 2011, Kabul: 14 ubat 2012

**Özet:** Bu çalı mada glikoz, früktoz, sükröz, 1-kestoz, Orafti P95, früktoz+1-kestoz, früktoz+nistoz, sükröz+1-kestoz, sükröz+nistoz, glikoz+1-kestoz, glikoz+nistoz ve glikoz+früktoz+1-kestoz içeren farklı de Man, Rogosa ve Sharpe sıvı besiyeri (MRS Broth) ortamlarında *Lactobacillus acidophilus* bakterisinin büyümesi incelenmi tir. Çalı ma sonuçları, *Lactobacillus acidophilus* bakterisinin frükto-oligosakkarit karı ımlarını metabolizleyebildi i ve bunlar arasında 1-kestozu tercih etti ini göstermektedir. Çalı mada nistozun glikoz, früktoz veya sükrözla kombine edildi i ortamlarda bakteri büyümesinde olumlu bir etki gözlenmemi tir. Dolayısıyla bakterinin nistozu metabolizleyemedi i sonucuna varılmış tir. En iyi üçlü kombinasyon olarak öngörülen glikoz+früktoz+sükröz içeren MRS Broth ortamında, ikili kombinasyonlara göre bakteri büyümesinde inhibisyon elde edilmi tir. Sonuç olarak, frükto-oligosakkarit karı ımlarından en iyi metabolizlenebilen bile enin 1-kestoz oldu u, en az hidrolizlenebilen bile enin ise nistoz oldu u belirlenmi tir. Frükto-oligosakkarit metabolizlenmesi sonucunda üretilen organik asit tür ve miktarları ise ODTÜ Merkez Laboratuvarı'nda YPSK ile analizlenmi ve 6,1 mg/ml laktik asit, 3,3 mg/ml propiyonik asit ve 3,1 mg/ml bütirik asit olarak belirlenmi tir.

**Anahtar kelimeler:** Frükto-oligosakkarit, prebiyotik, probiyotik, *Lactobacillus acidophilus*, organik asit

## Determination and Comparison of Interaction Between Fructo-oligosaccharide Components and *Lactobacillus acidophilus*

**Abstract:** In this research, the growth of *Lactobacillus acidophilus* bacteria in different medium of MRS Broth containing glucose, fructose, sucrose, 1-kestose, Orafti P95, fructose+1-kestose, fructose+nystose, sucrose+1-kestose, sucrose+nystose, glucose+1-kestose, glucose+nystose, or glucose+fructose+1-kestose was investigated. The results showed that *Lactobacillus acidophilus* bacteria can metabolize fructo-oligosaccharide mixtures, and preferentially uses 1-kestose. When nystose was combined with glucose, fructose or sucrose, no positive effect was observed on the growth. Thus, it was concluded that the bacteria cannot metabolize nystose. The predicted best triple combination of MRS-Broth containing glucose+fructose+1-kestose was inhibited the growth in comparison of double combinations. 1-kestose was found the best usable fructooligosaccharide compound whereas nystose was the least. Organic acid types and amounts that were produced after the consumption of fructo-oligosaccharides was analyzed by HPLC in Central Laboratory of METU, and it was found that 6.1 mg/mL lactic acid, 3.3 mg/mL propionic acid and 3.1 mg/ml butyric acid were produced by the bacteria.

**Key words:** Fructo-oligosaccharide, prebiotic, probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, organic acid

### 1. Giri

Bilindi i gibi üç ila on arasında monosakkarit içeren karbohidratlar oligosakkarit olarak adlandırılmaktadır. Frükto-oligosakkaritler (FOS), ya da ba ka bir ifadeyle oligofrüktozlar, yapısı en iyi bilinen ve en çok kullanılan oligosakkaritlerdir [1]. Lineer FOS zinciri ya -D-glikopiranozil-[ -D-früktofuranozil]<sub>n-1</sub>- -früktofuranoz (GF<sub>n</sub>) ya da

-D-früktofuranozil--[ -D-früktofuranozil]m-1- -früktopiranoz (FF<sub>m</sub>) yapısındadır [2]. FOS yapısında, früktozil-glikoz ba ları her zaman (2 1) ve früktozil-früktoz ba ları (2 1) eklindedir. En küçük FOS'lardan biri 1-kestozdur; glikoza ba lı iki früktoz bile iminden olu ur. zokestoz ya da 1-kestotrioz olarak da adlandırılmaktadır [3]. Glikoza üç früktoz ünitesi 1,6 ba 1 ile ba landı nda olu an düz zincir eklindeki yapı ise nistoz olarak adlandırılmaktadır.

FOS; so an, ku konmaz kökü, yerelması yumrusu, tahıl, muz, bira, sarımsak, domates, çimen, bal, hindiba gibi birçok gıdada do al olarak bulunur [2]. Hindiba ve yerelması en yüksek inülin ve FOS seviyesine sahiptir. Polimerizasyon derecesi, FOS'ların fonksiyonelli ini dolayısıyla da gıda endüstrisindeki kullanımını belirledi inden önemli bir özelliktir. Polimerizasyon derecesi arttıkça tatlılık azalır; dallanma arttıkça bakteri tarafından metabolizlenmesi zorla ır. Polimerizasyon derecesi 3-10 arasında olan FOS'lar teknolojik ve fonksiyonel açıdan uygundur. Polimerizasyon derecesi bitki türüne, bitkinin ya am döngüsüne, hava ve depolanma artlarına, bitkinin fizyolojik ya ına, hasat zamanına, ekstraksiyon parametrelerine ba lıdır [4].

FOS, gıda endüstrisinde teknolojik özellikleri ve besinsel de erinden ötürü kullanılmaktadır. Duyusal kaliteyi geli tirmesi, en iyi besinsel dengeyi içermesi gibi birçok yararından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir [5]. Şeker ve glikoz urubunun tüm teknolojik özelliklerine sahiptir. Do rudan kullanılabilir, ancak bazı durumlarda küçük bir adaptasyon gerekebilir. Kısacası, bütün bu özelliklerinden dolayı ideal bir gıda bile enidir. FOS'lar fonksiyonel gıda bile eni olarak kullanılmalarının yanında FDA (Food and Drug Administration; Gıda ve laç Kurumu) tarafından GRAS (generally-recognized-as-safe; güvenli olarak belirlenmi ) statüsünde kabul edilen bir bile enidir. Amerika'da kilogram ba ına fiyatı yakla ık 200 dolardır [6].

nsanlar tarafından sindirilemeyen FOS'lar, ba ırsak mikroflorasındaki yararlı bakterilerce metabolizlenirler. So an, enginar, sarımsak, pırasa, hindiba ve tahıllarda oligosakkarit bulunmaktadır [2, 7]. FOS'un kanıtlanmı sa lık etkileri, dolayısıyla prebiyotik kavramı içinde yer almasının nedenleri: kanser olu turucu hücreleri (aberrant crypt foci) inhibe etmeleri [8], üst gastrointestinal sistemde ya hidrolize olmaları ya da emilmeleri [9], osteoporozu önlemesi ve kemikleri güçlendirmesi [10], kolondaki probiyotik bakterilerin geli imini desteklemesi [11], obezite riskini azaltması ve 2. tip diyabeti önlemesi [5], patojenik bakterileri inhibe etmesi [11], lipidemi ve/veya kolesterol düzeyini azaltması [12], kalsiyum, magnezyum, fosfor, demir emilimini artırması [13] ve kardiovasküler hastalıkların riskini azaltmasıdır [14].

1900 yılında ilk olarak Moro tarafından çocuk dı kısımdan izole edilen probiyotik bir bakteri olan [15] *Lactobacillus acidophilus*, genellikle 0.6-0.9 mm eninde, 1.5-6.0 mm uzunlu unda çubuk eklinde olan bir laktik asit bakterisidir. Laktik asit bakterilerinin çe itli ortamlarda fermente ettikleri ürünlerden son ürün olarak farklı asitler ortaya çıkmaktadır. Bu asitlerin varlı ı ve miktarı bakterinin bu ortamda ne kadar ürünü ne kadar sürede fermente etti i hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca kısa zincirli ya asit miktarının fazla olması bu bakterinin sa layaca ı sa lık etkilerini kuvvetlendirmektedir. *L. acidophilus* ile gerçekleştirilen çalı malarda MRS Broth ortamında (sıvı besiyeri) 20 saat sonunda asetik, formik, laktik ve bütirik asit üretti i gözlenirken [16], ortama

frükto-oligosakkarit eklenmesi bu asitlerin yanı sıra sitrik, glutamik, süksinik asitlerin de üretilmesine neden olmu tur [17].

Gerçekle tirilen çalı manın amacı ise en basit frükto-oligosakkaritleri içeren kombine ortamlarda *L. acidophilus* bakterisinin büyümesi ve sonuçlarında üretilen organik asit miktarlarının belirlenmesidir. Literatür çalı malarında frükto-oligosakkarit karı ımlarının ayrı tırılması zor oldu undan karı ımın kendisi kullanılarak benzer çalı malar yapılmı tır. Bu çalı ma ise frükto-oligosakkarit bile enlerinin hangisinin bakteri tarafından kullanıldı mı ve sonuçta hangi organik asitlerin üretildi ini belirlemesi açısından literatüre katkıda bulunmaktadır. Bu sayede probiyotik bakterinin en çok büyümesini sa layan bile enler belirlenmi olacak ve bu bile enlerin eklendi i gıdalar insan sa lı mı en üst düzeyde destekleyebilecektir. Ayrıca benzer etki bakterinin hidrolizleyemedi i bile enlerin çıkarılmasıyla da sa lanabilir. Çalı ma sonucunda hangi bile enin hangi organik asit üretimine yol açtı ımın belirlenmesi, ileride spesifik amaçlı organik asit üretimini sa layan fonksiyonel gıda üretimine de ık tutabilecektir.

## 2. Materyal ve Metot

Liyofilize halde alınan *L. acidophilus* DSM20079 su u (Peyma-Hansen) çalı ma boyunca -80°C'de depolandı. Bakteri, 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavlanarak (NÜVE OT40L; dik tip) steril hale getirilmi standart MRS sıvı besiyerine (Tablo 1) ekilerek 24 saatlik adaptasyonla aktifle tirildi. 24 saat sonunda homojenize edilen tüplerden 200µl'lik örnek, 200ml'lik üç paralel aynı ekilde sterillenmi spesifik besiyerlerine aktarıldı. Bu spesifik besiyerleri, standart MRS sıvı besiyerindeki karbohidrat kayna ı de i tirilerek elde edildi; içeri inde bulunun glikoz yerine; früktoz, sükroz, orafti koyularak tekli seriler; glikoz+kestoz, glikoz+nistoz, früktoz+kestoz, früktoz+nistoz, sükroz+kestoz, sükroz+nistoz ekinde ikili seriler; ve glikoz+früktoz+kestoz kullanılarak da üçlü seri olu turuldu (Tablo 1).

**Tablo 1.** *L. acidophilus* bakterisinin aktifle mesi ve büyümesi için kullanılan sıvı besiyerleri bile imi

Besiyeri bile eni	200 ml standart MRS besiyeri için gerekli miktar (g)	<i>L.acidophilus</i> gelişiminin izlenece i 700 ml spesifik MRS besiyeri için gerekli miktar (g)
Kazein Peptonu	2	7
Et ekstraktı	1.6	5.6
Maya ekstraktı	0.8	2.8
		Tekli seri için
		3.5 g Glikoz
		3.5 g Früktoz
		3.5 g Sükroz
		3.5 g Orafti P95
		ikili seri için
		3.5 g Glikoz + 25 mg Kestoz
		3.5 g Glikoz + 25 mg Nistoz
		3.5 g Früktoz + 25 mg Kestoz
		3.5 g Früktoz + 25 mg Nistoz
		3.5 g Sükroz + 25 mg Kestoz
		3.5 g Sükroz + 25 mg Nistoz

		Üçlü seri için 1.75 g Glikoz+ 1.75 g Früktoz+ 25 mg Kestoz
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.4	1.4
Tween 80	0.2	0.7
Diamonyun hidrojen sitrat	0.4	1.4
Sodyum asetat(trihidrat)	1,65	5.8
MgSO <sub>4</sub>	0.04	0.14
MnSO <sub>4</sub>	0.008	0.028

Besiyerlerine ekilen bakteri, 37°C'de inkübatörde her besiyeri için ön denemelerle belirlenen süreçlerde büyütüldü. Büyüme Tablo 2'de belirtilen sürelerde örnek alınarak spektrofotometre (Ultraspec 3000; Pharmacia Biotech) ile 600nm'de absorbans ölçülerek belirlendi. Üç paralel halinde yapılan deneylerin aritmetik ortalamaları hesaplandı. Paraleller arasında %1.3 standart sapma gözlenmiştir.

Tablo 2. *L.acidophilus* bakterisinin gelişim gösterdiği spesifik besiyeri ortamlarının ölçüm saatleri

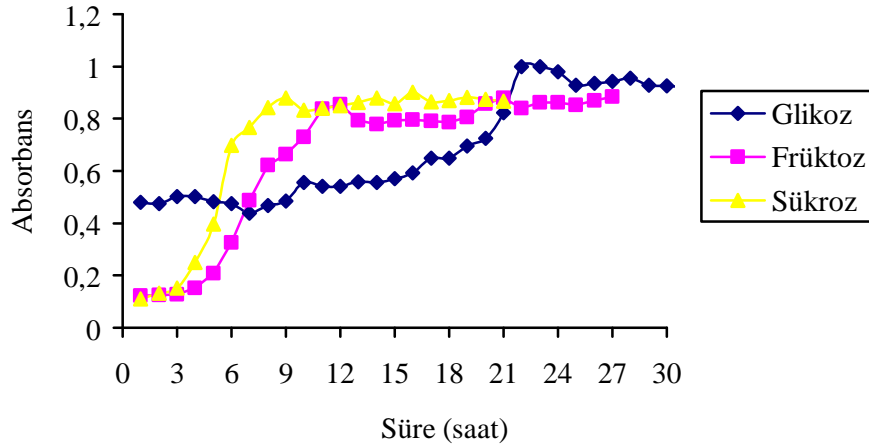
Besiyeri eker kaynağı	Absorbans ölçüm aralığı
Glikoz	1. ve 30. saatler arasında her saat başı
Früktoz	3. ve 30. saatler arasında her saat başı
Sükroz	3. ve 30. saatler arasında her saat başı
OraftiP95	3. ve 28. saatler arasında her saat başı
Glikoz+Kestoz	4. ve 24. saatler arasında her saat başı
Glikoz+Nistoz	3. ve 30. saatler arasında her saat başı
Früktoz+Kestoz	6. ve 13. saatler arasında her saat başı
Früktoz+Nistoz	10. ve 20. saatler arasında her saat başı
Sükroz+Kestoz	14. ve 23. saatler arasında her saat başı
Sükroz+Nistoz	14. ve 23. saatler arasında her saat başı
Glikoz+Früktoz+Kestoz	10. ve 20. saatler arasında her saat başı

Bakterinin ürettiği organik asit türü ve miktarları ise Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (YPSK) yöntemi kullanılarak belirlendi. Ölçümler ODTÜ Merkez Laboratuvarında gerçekleştirildi. Bu analizlerde Aminex HPX-42C (Biorad) kolonu Refraktif İndeks dedektörü ile birlikte, kolon sıcaklığı 80°C ve mobil faz akış hızı 0,6 ml/dk olan saf su iken kullanıldı. Organik asit analizleri standartlarıyla karşılaştırılarak belirlendi.

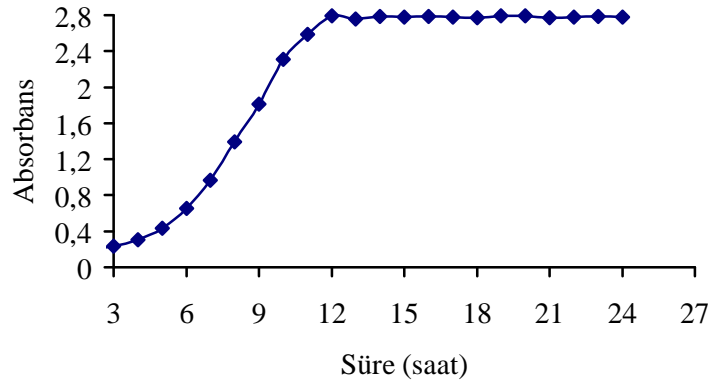
### 3. Bulgular

Yapılan tekli seri incelemelerinde, *Lactobacillus acidophilus* bakterisinin bilinen monosakkaritleri kullanma süresi ve düzeyi belirlendi (ekil 1). Früktoz ve sükroz içeren ortamda yaklaşık üçer saatlik bir latent dönem gözlenirken, bu sürenin glikozda 9 saate kadar uzadığı gözlemlendi. Bakterinin üreme dönemi glikoz varlığında 9 saat, früktoz varlığında yaklaşık 11 saat, sükroz varlığında ise 6 saat sürdü. Bu süreler sonunda durma dönemine ulaşan mikroorganizmalar, glikoz varlığında 1,092 absorbansa ulaşırken, früktoz ve sükroz varlığında yaklaşık 0,88 absorbans gözlemlendi. Orafti P95 (%93,2 saflıkta frükto-oligosakkarit karışımı) içeren ortamda ise bakterinin latent dönemi geçirmeksizin üreme fazına geçtiği, yaklaşık 9 saatlik üreme evresi sonrasında 2,791 absorbansa ulaşabildiği gözlemlendi (ekil 2). Bakterinin basit ekerlerden glikozu

en iyi kullanabilmesi, frükto-oligosakkarit karışımlarını hidrolizleyebilmesi literatürdeki bulgularla da uyum içerisindedir [16, 17].



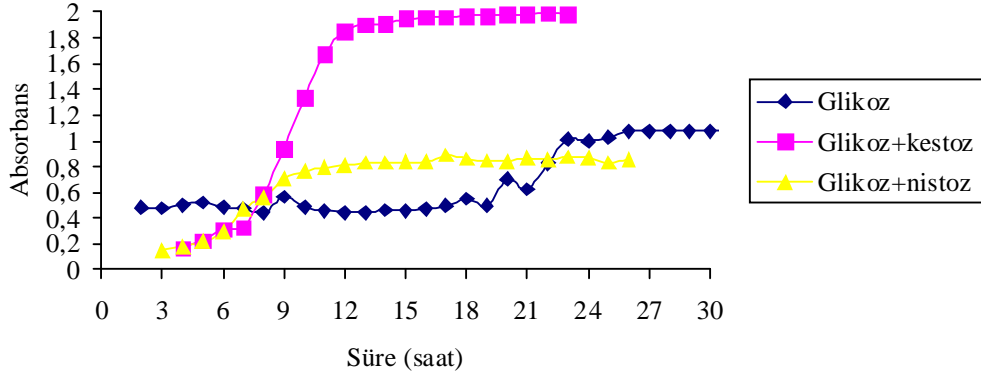
ekil 1. *Lactobacillus acidophilus*'un bilinen basit şeker içeren ortamlardaki büyüme grafikleri



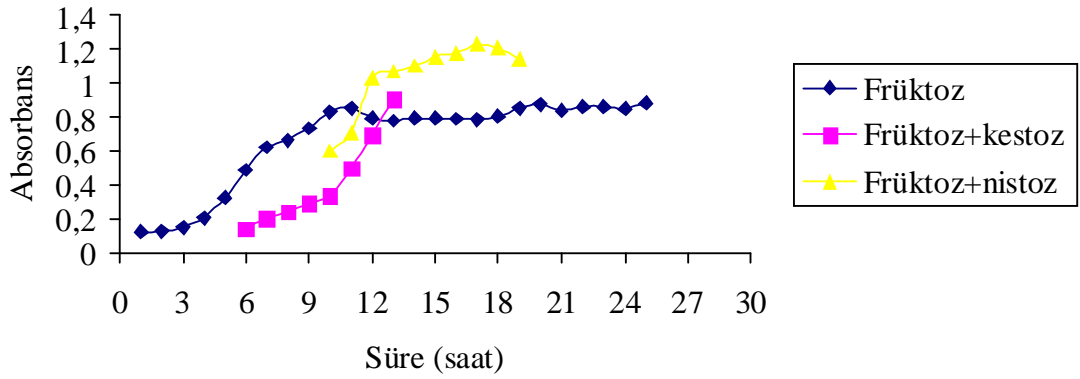
ekil 2. *Lactobacillus acidophilus*'un Orafit P95 içeren ortamdaki büyüme grafiği

Frükto-oligosakkarit bileşenleri saf olarak elde edilmesi çok zor ve maliyetli olan maddelerdir. Bu nedenle saf bileşenlerin tekli çalımlarıyla karıştırmaya yetecek verileri sağlayamayacağından, ikili serilere geçilmiştir. Glukoz ve kestoz içeren ortamda bakterinin latent faz geçirmeden üremeye başladığı, 9 saatlik bu dönem sonucunda 1,903 absorbans değerine ulaşılmıştır. Gözlenirken, glukoz ve nistoz içeren ortamda, latent dönem olmaksızın 6 saatlik bir üreme sonucunda belirlenen absorbans değeri 0,827'dir (ekil 3). Früktoza kestoz veya nistoz eklenmesi üreme sürelerinin sırasıyla 8 ve 6 saate düşmesini sağlamıştır ve absorbans değerlerinin de 1-1,2'ye kadar artmasına neden olmuştur (ekil 4). Düşük polimerizasyon derecesine sahip frükto-oligosakkarit bileşenlerinin probiyotik bakterilerin gelişimine destek olduğu literatürde de belirtilmektedir [14]. Sükröz

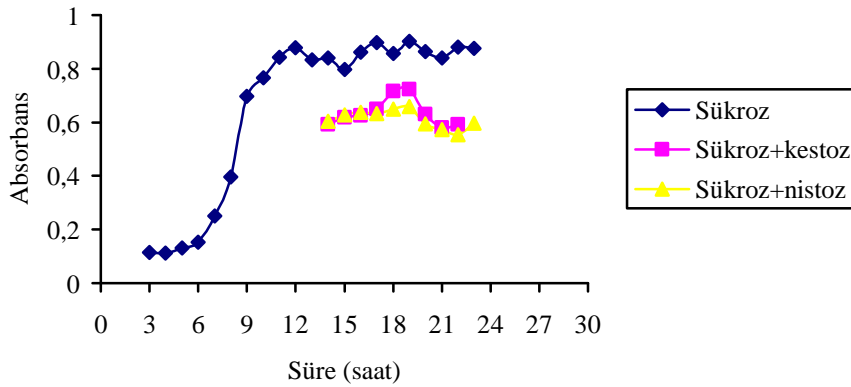
eklenen kestoz ve nistoz bile enleri ise bakteri inhibisyonuna neden olmu ve absorbands de erlerini 0,6-0,7'ye kadar dü ürmü tür ( ekil 5). Frükto-oligosakkarit bile enlerinin ayrılmasındaki zorluk nedeniyle literatürde saf bile enlere ait kombinasyon çalı maları mevcut de ildir.



ekil 3. *Lactobacillus acidophilus*'un glikoz bazlı ortamlardaki büyüme grafikleri



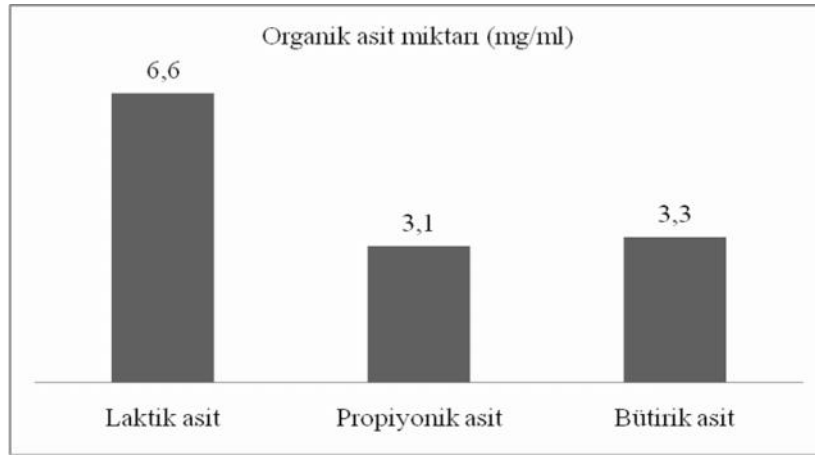
ekil 4. *Lactobacillus acidophilus*'un früktoz bazlı ortamlardaki büyüme grafikleri



ekil 5. *Lactobacillus acidophilus*'un sükroz bazlı ortamlardaki büyüme grafikleri

Basit ekerler (monosakkaritler) kar ıla tırıldı nda en çok üremeyi sa layan karbohidratın glikoz oldu u ( ekil 1), ikili seriler kar ıla tırıldı nda glikozun kestozla bile ik etki göstermesi ( ekil 3), früktozun hem kestoz hem de nistozla sinerji yarattı ı ( ekil 4) gözlenmi tir. Sükrozun bu bile enlerle kombinasyonunda kestoz veya nistoz eklenmesi bakteriyi inhibe etmektedir ( ekil 5). Bu durum dikkate alındı nda, en iyi üçlü kombinasyonun glikoz, früktoz ve kestoz içeren ortam olabilece i öngörölmü tür. Ancak, 10-20 saatler arasında bakteri büyümesi incelendi inde 18. saatte durma dönemine geçti i ve yakla ık 0,6 absorbansta kaldı ı belirlendi.

Bu nedenle frükto-oligosakkarit karı ımlarını içeren Orafti P95 içeren ortamda 37°C’de 14 saatlik büyüme sonucunda alınan numunede organik asit türü ve miktarı ölçüldü. Analiz sonucunda laktik, propiyonik ve bütirik asit olu umu belirlendi. Üretilen organik asitlerin miktarları kar ıla tırıldı nda laktik > bütirik > propiyonik asit sıralaması gözlendi ( ekil 6). Benzer sıralamalar son yıllarda yapılan çalı malarda da gözlenmi tir [16, 17]. Ancak, kullanılan ortamın içeri i ve eklenen frükto-oligosakkarit bile enleri ve miktarındaki farklılık farklı miktarlarda üretilmesine neden olmaktadır.



ekil 6. *Lactobacillus acidophilus*'un Orafti P95 ortamında üretti i organik asit türü ve miktarları

#### 4. Tartı ma ve Sonuç

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2113-YL-10 kodu altında desteklenen bu çalı mada probiyotik bir bakteri olan *L. acidophilus*'un en küçük frükto-oligosakkarit bile enlerini kullanabilme yetisi ve sonuçları ara tırılmı tir. Sadece glikoz içeren ortamda, sadece früktoz içeren ortamda ve sadece sükroz içeren ortamda bakteri büyüme e rileri kar ıla tırıldı nda, hem eker kullanma hızının artı ıyla hem de kullandı nda en yüksek adsorpsiyona sahip olması nedeniyle bakterinin birincil tercihinin glikoz oldu u belirlenmi tir. Früktoz ve sükroz arasında büyüme miktarı açısından bir farklılık görölmemesine ra men, früktozun tüketim hızının sükrozdan daha yüksek oldu u sonucuna varılmı tir. Elde edilen grafiklerdeki büyüme e miktarda eker içeren Orafti P95 içeren ortamda elde edilen büyüme ile kar ıla tırıldı nda, bakterinin frükto-oligosakkaritleri tüketmesi durumunda çok daha yüksek (iki kattan fazla) büyüme seviyesine ula tı ı sonucuna varılmı tir. Basit ekerlere 1-kestoz eklendi inde büyümenin yakla ık iki katına çıktı ı

gözlenmi tir. Nistoz, glikoz, früktoz ve sükrözla kombine edildi inde her üçünde de geli im üzerinde belirgin bir olumlu etki göstermedi i gözlenmi tir. En iyi üçlü kombinasyon olarak belirlenen glikoz+früktoz+1-kestoz karı ımı içeren MRS-Broth'da ise geli im ikili kombinasyonlara göre inhibe edilmis tir. Sonuç olarak; bakteri frükto-oligosakkarit karı ımlarını metabolizleyebilmekte, en iyi 1-kestozu kullanmakta nistozu ise kullanamamaktadır. Bu bulgular, literatürde frükto-oligosakkarit karı ımları kullanılarak gerçekleştirilen çalı malarla da uyum içindedir [16, 17]. Ancak, frükto-oligosakkarit miktarı hem bakteri büyümesinde, hem de fermentasyon sonucu üretilen organik asit türü ve miktarında etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca, Orafiti P95 içeren ortamda olu an büyüme miktarı sadece kestozdan kaynaklanmamakta oldu undan bu bakterinin frükto-oligosakkarit karı ımları içerisindeki yüksek polimerizasyon derecesine sahip bir veya daha fazla bile eni de kullanabildi i dikkate alınmalıdır.

## 5. Kaynaklar

- [1] Delzenne N.M., Roberfroid M.R., 1994. Physiological effects of nondigestible oligosaccharides, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27: 1–6.
- [2] Yıldız S., 2011. The metabolism of fructooligosaccharides and fructooligosaccharide-related compounds in plants, *Food Reviews International*, 27: 16-50.
- [3] Lewis D.H., 1993. Nomenclature and diagrammatic representation of oligomeric fructans- a paper for discussion, *New Phytologist*, 124:583-594.
- [4] Crittenden R.G., Playne M.J., 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides, *Trends in Food Science and Technology*, 7:353–361.
- [5] Franck A., 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose, *British Journal of Nutrition*, 87:287-289.
- [6] Godshall M.A., 2007. Future directions for the sugar industry. <http://www.sprinc.org/buton10bftpp.html>. (Dec 2007).
- [7] Brannon C., 2003. Prebiotics: feeding friendly bacteria. Today's Dietitian Magazine, [www.todaysdietitian.com/todayscpe\\_articles.html](http://www.todaysdietitian.com/todayscpe_articles.html). (Jan 2010).
- [8] Nzeusseu A., Dienst D., Houfroid V., Depressux G., Jean-Pierre Devagelaer, Daniel Henry Manicourt., 2006. Inulin and FOS differ in their ability to enhance the density of cancellous and cortical bone in the axial and peripheral skeleton of growing rats, *Bone*, 38: 394-399.
- [9] Molis C.H., Flourie B., Quarne F., Gailling M.F., Lartigue S., 1996. Digestion, excretion and energy value of FOSs in healthy humans, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 64: 324-328.
- [10] Tungland B.C., Meyer D., 2002. Non-digestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 90-109.
- [11] Roberfroid M.B., 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1682-1687.
- [12] Roberfroid M.B., Delzenne N.M., 1998. Dietary fructans. *Annual Reviews of Nutrition*, 18: 117-143.
- [13] Itsaranuwat P., Khawla S.H., Al- Haddad, Robinson R.K., 2003. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. *Society of Dairy Technology*. 56: 203-210.
- [14] Roberfroid M.B., Slavin J., 2000. Nondigestible oligosaccharides, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40:461-80.
- [15] Çakır ., Çakmakçı M.L., 2004. Probiyotikler: tanımı, etki mekanizması, seçim ve güvenilirlik kriterleri, *Gıda*, 29: 427.
- [16] Liong M.T., Shah N.P., 2005. Production of organic acids from fermentation of mannitol, fructooligosaccharide and inulin by a cholesterol removing *Lactobacillus acidophilus* strain, *Journal of Applied Microbiology*, 99: 783–793.
- [17] Zalan Z., Hudacek J., Stetina J., Chumchalov J., Hala A., 2009. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media, *European Food Research and Technology*, 230: 395–404.