

Probiyotik Maya Olarak *Saccharomyces cerevisiae*'nin Gelişimi Üzerine *Pyrus communis* L.'nin (Armut) Bazı Fitokimyasal Etkileri

Pınar Erecevit^{1*} Sevda Kırbağ²

^{1*}Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Pertek, Tunceli, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

*Yazışmalardan sorumlu yazar: E-mail: perecevit@munzur.edu.tr

Makale gönderme tarihi:27.12.2016, Makale kabul tarihi:03.06.2017

Özet

Bu çalışmada; *Saccharomyces cerevisiae* ile muamele edilen besin olarak tüketilen *Pyrus communis* L. (armut) ekstraktlarının yağ asidi, vitamin, fitosterol, flavonoid ve resveratrol içerikleri ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenerek kontrol grubu; armut ve *S. cerevisiae* ekstraktları ile karşılaştırmalar yapıldı.

Elde edilen sonuçlara göre; armut ekstraktındaki toplam yağ asidi, vitamin ve fitosteroller içeriklerinin değişen seviyelerde olduğu gözlemlendi. *S. cerevisiae* ile hazırlanan armut ekstraktındaki toplam yağ asidi düzeylerinin çok belirgin, vitamin ve fitosterol içeriklerinin; α -tokoferol de kısmi, D vitamini, δ -tokoferol, ergosterol de çok anlamlı seviyelerde yükseldiği, diğer bileşiklerin azaldığı, flavonoid içeriklerinin ise kateşin ve rutinde çok belirgin artarken diğer bileşiklerde farklı oranlarda azaldığı saptandı. Çalışmada armudun yağ asidi ve vitamin ekstraktlarının oldukça belirgin oranlarda antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu görüldü. *S. cerevisiae* içeren armut ekstraktlarının ise antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde, yağ asidi ekstraktlarının *Klebsiella pneumoniae* FMC 5 dışında ki tüm mikroorganizmalarda artan seviyelerde antimikrobiyal aktivite gösterirken, vitamin ve flavonoid ekstraktlarının bazı mikroorganizmalarda etki göstermediği, bazılarında az miktarlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı.

Sonuç olarak; besin ve lif içeriği yüksek bir meyve olan armudun, bu çalışmada kullanılan potansiyel probiyotik olarak kabul edilen *S. cerevisiae* gelişimi için hem enerji kaynağı hemde olumlu yönde etkilerinin olduğu ve armuttan elde edilen ekstraktlar içerisinde gelişen bu maya türünün bitki kaynaklı faydalı bileşiklere değişen oranlarda etki gösterdiği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, fitokimyasal, *Pyrus communis* L. (armut), *Saccharomyces cerevisiae*

Determination of Phytochemical Characteristics of *Pyrus communis* L. (Pear) on the Development of *Saccharomyces cerevisiae*s Probiotic Yeast

Abstract

In this study; fatty acid, vitamin, phytosterol, flavonoid and resveratrol contents and antimicrobial activities of *Pyrus communis* L. (pear) extracts are consumed as food worldwide both by humans and animals that treated with *S.cerevisiae* were determined and compared.

It was detected that total fatty acid levels of pear extracts prepared with *S.cerevisiae* increased at significantly high and phytosterol, vitamin contents; partly at α -tokoferol, high levels at D vitamin, δ -tokoferol, ergosterol, while decreased at other compounds. However, flavonoid contents increased significantly high at catechin and rutin but other compounds; decreased at different rates.

In the study, it was noticed that fatty acid, vitamin, extracts of pear had antioxidant and antimicrobial activities at highly significant rates. When antimicrobial activities of pear extracts containing *S.cerevisiae* were analyzed, it was observed that they had effect at changing rates against all of the bacteria, yeasts and dermatophyte fungi except *K. pneumoniae*, at increasing values of fatty acid extracts, but vitamin and flavonoid extracts demonstrated scarcely any antimicrobial activity against some of the microorganisms but have also showed antimicrobial activity in small quantities.

In conclusion, it was detected that pear which is known as food and dietary fiber source, had both energy source and positive effects for the development of *S.cerevisiae* used in this study which is also accepted as a potential probiotic. It was observed that this yeast type developing in extracts obtained from pear affected beneficial bioactive compounds phyto source at changing rates.

Keywords: Antimicrobial, phytochemical, *Pyrus communis* L. (pear), *Saccharomyces cerevisiae*

GİRİŞ

Yaşam standartlarının yükselmesiyle birlikte insanlar aldıkları gıdaların nitelikleri ve sağlıkları üzerindeki etkileri hakkında çok daha hassas ve bilinçli olmaya başlamışlardır. Bunun sonucunda artık beslenme bilimi dengeli beslenme üzerindeki vurguyu azaltmadan optimum beslenme kavramının geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Dönmez ve ark., 2010). Optimal beslenme için tüketilen besinler sadece elzem olan besin öğelerini içermez, sağlığın korunması, geliştirilmesi ve diyetle bağlı kronik hastalıkların önlenmesinde etkinlik gösteren fitokimyasallar adı verilen biyoaktif bileşenleri de içerir (Yücecan, 2008). Optimum beslenmeye giden bu yolda diyet lifleri sağlıklı yaşam ve beslenme tavsiyelerinin en tepesinde yer bulmaya başlamıştır. Diyet lifi bu yararlı etkileri yanında gıda formulasyonlarında kullanılabilen teknolojik özelliklere de sahiptir. Yeni lif kaynaklarının ortaya çıkışı ve lif fonksiyonelliğinin geliştirilmesi liflerin gıda endüstrisinde kullanımı konusunda yeni olanaklar tanımaktadır (Dönmez ve ark., 2010). Aynı zamanda kolonda fermente edilebilen lifler, prebiyotik olarak davranarak Lactobacilli ve Bifidobacteria gibi sağlığa faydalı probiyotiklerin gelişimini desteklemekte, faydalı bakteriyel kütleleri arttırmaktadırlar (Çelik, 2013). Bitkisel kaynaklı liflerin yani prebiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine olumlu etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Yılmaz, 2004; Yağcı, 2005; Çelik, 2007; Nehir El, 2009). Gıda ve sağlık alanında giderek artan bir önem kazanan probiyotik- prebiyotik konusu çalışmaları bu anlamda ülkemiz için büyük önem taşımaktadır. Besinlerimizde diyet lif değişik oranlarda bulunmaktadır.

Hamur mayası olarak bilinen *S. cerevisiae*, gastroenterit tedavisi için probiyotik olarak, endojen floranın ve immün sistemin düzenlenmesinde kullanıldığı, probiyotiklerin besinsel kaynaklarından kefir tanelerinde fungal mikrobiyota da bulunduğu, istenmeyen mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesi ve enzim üretimi gibi birçok önemli etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (Ouwehand ve ark., 1999; Jespersen, 2003; Turan ve İltar, 2007; Kaleli, 2007; Karademir ve Ünal, 2008; Morzouk ve ark., 2008; Uylaşer, 2009; Eren ve ark., 2014).

Bu çalışmada hazım kolaylaştırıcı ve diyet lifi açısından zengin gıdalardan armut meyvesinin, potansiyel probiyotik olan *S. cerevisiae*'nin gelişimine nasıl etki ettiği araştırılarak bazı fitokimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. Böylece lifçe zengin beslenmenin sağlıklı yaşam üzerine

olumlu etkileri olan probiyotik- prebiyotik ilişkisinin önemi vurgulanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan armut örnekleri Elazığ ilinden temin edildi. Kabuk kısımları ile birlikte ekstrakt edilinceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Şeker Analizi

10 g armut örneği distile su ile homojenize edildi. Sonra pellet ile süpernatant kısmı ayrıldı. Toplam filtratın hacmi belirlendikten sonra mobil faz olarak asetonitril+su (v/v) (%75:%25) karışımı kullanıldı. HPLC cihazı ile analiz edildi ve Shim-Pack HRC NH₂ (150×4.6 mm, 5µm) kolonu kullanıldı (Chromatography A, 2004).

Lipid Ekstraksiyonu

Armut örneği 1/4 oranında metanol ile hazırlanıp steril cam erlene bırakıldı. Ekstrakt blenderda çözücüler içerisinde parçalanmasıyla elde edildi. Parçalama işleminden sonra santrifüj edildi. (5000 rpm+4 °C). Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantdan rotary evaporatör kullanılarak çözücüler ortamdan uzaklaştırıldı. Yaş ağırlığı belirlenen hücre pelletleri ise 3:2 (v/v) heksan-izopropanol karışımı ile homojenize edildi. 5000 rpm'de 4 °C'de 5dk. santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı yağ asidi ve ADEK vitamin analizi için kullanıldı (Hara ve Radin, 1978). Alınan ağırlıklar total yağ asidi miktarının hesaplanmasında kullanıldı.

Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Süpernatant kısmından 5mL örnek alınıp üzerine 5 mL % 2'lik metanolik sülfirik asit (2mL sülfirik asite yavaş yavaş 98 mL metanol eklenerek hazırlanır) ilave edildi. Vortekslelendikten sonra 50 °C'de 12 saat bırakıldı ve oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra üzerine 5mL % 5'lik sodyum klorür (NaCl) çözeltisi ilave edilerek vortekslelendi. Yağ asidi metil esterleri 5 mL heksan ile ekstrakte edildi. Bu karışım 5 mL % 2'lik KHCO₃ çözeltisi ile muamele edildikten sonra, heksan fazı azot akımı ile uçuruldu ve 1 mL heksanda çözülerek yağ asidi metil esterlerine dönüştürüldü. Daha sonra yağ asitlerinin gaz kromatografisi analizi SHIMADZU GC 17 cihazıyla yapıldı (Christie, 1992; Tvřzicka ve ark., 2002).

Fitosterollerin Ekstraksiyonu ve Analizi

Hekzan:izopropil alkol karışımı (3:2 v/v oranında) ile homojenize edilen meyve örneği üzerine % 5'lik KOH ilave edildi ve 85 °C'de hidroliz edildi. Ekstraksiyon n-heptan ile muamele edildi.

Analiz, Shimadzu marka HPLC cihazı ile yapıldı. Cihazda pompa olarak LC-10 ADVP UV-visible detectör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser ünitesi olarak DGU-14A ve Class VP software (Shimadzu, Kyota Japan), mobil faz olarak asetonitril:metanol (% 60+% 40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 mL olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör kullanıldı. Kolon olarak da Süpelcosil LC 18 (15×4.6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. A vitamini için dedeksiyon dalga boyu 326 nm, E vitamini için 202 nm, D ve K vitaminleri için 265 nm kullanıldı (Katsanidis ve Addis, 1999).

ADEK Vitaminleri ve Sterol Miktarının HPLC Cihazı ile Analizi

Süpernatant kısmından alınan 5 mL örnek üzerine % 5'lik KOH çözeltisi ilave edilip vortekslendi ve 85 °C'de 15 dk bekletildi. Sonra oda sıcaklığı düzeyinde soğutuldu ve üzerine 5mL saf su ilave edildi ve vortekslendi. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2×5 mL hekzan ile muamele edildikten sonra ortamdaki hekzan uzaklaştırıldı. Sonra 1 mL (% 50+% 50, v/v) asetonitril:metanol karışımında çözdürülüp HPLC cihazı ile analiz edildi (Katsanidis ve Addis, 1999; Lopez-Cervantes ve ark., 2006).

Resveratrol ve Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Flavonoidlerin kromatografik analizi için 5 µm iç çapında PREVAIL C18 (15×4.6 mm) ters-faz kolon kullanıldı. Mobil faz olarak % 1 asetik asit içeren metanol:su:asetonitril (46:46:8, v/v:v) karışımı kullanıldı. Flavonoid ve resveratrol analizi HPLC cihazında yapıldı ve tüm işlemler 25 °C'de gerçekleştirildi (Zu ve ark., 2006).

DPPH Radikal Temizleme Aktivitesi

Serbest radikal 25 mg L⁻¹ DPPH metanolik çözelti hazırlandı. Deney sırasında 3.9 mL DPPH radikalinin metanolik çözeltisi üzerine 25, 50, 100 ve 250 µL konsantrasyonlarda bitki örnekleri ilave edilip vortekslendi ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika inkübe edildi. Absorbans

değerleri için 517 nm'de blanka karşı spektrofotometrede okundu (Brand-Williams ve ark., 1995; Hsu ve ark., 2006).

Radikal temizleme aktivitesi % olarak hesaplandı. DPPH radikal temizleme aktivitesi; (%)=[(Abs_{Kontrol}-Abs_{Örnek})/(Abs_{Kontrol})]×100 formülü ile hesaplandı.

Pyrus communis L. (Armut) Ekstraktının *Saccharomyces cerevisiae* ile Muamele Edilmesi ve Geliştirilmesi

S. cerevisiae'nin gelişimi ve çoğalması için Yeast Malt Ekstrakt Buyyon'a ekimi yapıldı. Spektrofotometre'de 517 nm'de absorbans değerleri okunduktan sonra hazırlanan minimal besiyeri ve (0.019 M NaCl, 0.022 M KH₂PO₄, 0.049 M Na₂HPO₄, 0.019 M NH₄Cl, 0.002 M MgSO₄, 0.011 M Glukoz) (Aydın, 1999) armut ekstraktının olduğu ortama steril şartlarda *S. cerevisiae*'nin buyyondaki kültürü ile % 1 oranında aşılansarak (10⁴ maya:mL) uygun pH (4.8) ortamı sağlandı. Minimal besiyerinde gelişim gösteren ekstraktlar alınıp canlı hücre sayımı için 6 h., 12 h., 24 h., 36 h., 48 h., 60 h. ve 72 h.'de spektrofotometrede 517 nm'de okunduktan sonra malt ekstakt ağara ekim yapılarak inkübasyona bırakıldı ve koloni sayımlarına bakıldı. Gelişim durma noktasına geldiği anda örnekler santrifüj edilerek pelletleri toplandı. Bu pelletlerin yağ asidi, vitamin, flavonoid ve resveratrol ile antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. Kontrol grubu olarak aynı işlemler sadece minimal besiyeri ortamında geliştirilen *S. cerevisiae* ve armut üzerinde de uygulandı ve kıyaslamalar yapıldı. Çalışmalar 3 paralel halinde yürütüldü.

Antimikrobiyal Aktivite

Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları

Çalışmada probiyotik maya olarak kullanılan; *S.cerevisiae* Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan elde edilerek, ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin test edilmesinde kullanılan patojen mikroorganizmalardan; *Staphylococcus aureus* COWA1, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterileri, *Candida albicans* FMC 17, *Candida glabrata* ATCC66032 mayaları, *Trichophyton* sp., *Epidermophyton* sp. dermatofit fungus türleri de aynı kültür koleksiyonundan sağlandı.

Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması ve ekim

Bakteri suşları; nutrient buyyona aşılansarak 35±1 °C’de 24 saat, maya suşları; yeast malt ekstrakt buyyonda ve dermatofit funguslar glukozlu sabouroud buyyonda 25±1 °C’de 48 saat süre ile inkübe edildi. Sıvı besiyerinde gelişen kültürler, Mc Farland (0.5) standart tüpüne göre bulanıklık ayarı yapıldıktan sonra buyyon tüplerine aktarıldı. Erlenmayerde steril edilen ve 45-50°C’ye kadar soğutulan müller hinton agar, yeast malt ekstrakt agar ve sabouraud dextrose agar yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanıp bakteri, maya ve fungusların buyyondaki kültürü ile % 1 (kültür örneklerinin alınacağı halkalı özenin çapı 0.01 mL sıvı alacak şekilde olmalı) oranında aşılansarak (10⁶ bakteri mL⁻¹, 10⁴ maya mL⁻¹, 10⁴ fungus mL⁻¹) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kutularına 15’er mL konuldu ve besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanmış oldu.

Oyuk agar metodu

Her mikroorganizma için ayrı olarak agar hazırlandı. Bakteriler; müller hinton agara içine ekim, mayalar; yeast malt ekstrakt agara ve dermatofit funguslar; sabouraud dextrose agara yüzeysel ekim yapıldı. Katılaştıran agar üzerine 6 mm çapında oyuk açıldı. Açılan oyuklara her mikroorganizma için özel olan besiyerinden bir damla sonra 10 µL flavanoid, vitamin, yağ asidi örnekleri direkt olarak aktarıldı. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4 °C’de 1.5-2 saat bekletildikten sonra bakteri aşılansan plaklar 37±1 °C’de 24 saat, maya ve dermatofit aşılansan plaklar ise 25±1 °C’de 3 gün süre ile inkübe edildi. Çalışma 3 paralel olarak yürütülerek ve sonuçlar ortalama değer olarak inhibisyon zonu (mm) şeklinde değerlendirildi (Collins ve Lyne, 1987; Özçelik, 1992).

İstatistik Analizi

SPSS 15.0 software programı istatistik analiz için kullanıldı. ANOVA ve LSD testleri de gruplar ve kontrol grubu (armut ve *S. cerevisiae*) arasındaki karşılaştırmalar için kullanıldı. Sonuçlar mean±SE

olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılıklarda p<0.001, p<0.01, p<0.05 kullanıldı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Şeker Analizi İçerikleri

Armut ekstraktının şeker analizi sonuçları incelendiğinde Çizelge 1; fruktoz, glukoz miktarının çok anlamlı ve sakkarozda anlamlı, maltozda çok düşük düzeylerde bulunduğu görüldü.

Çizelge 1. *Pyrus communis*L. (armut) ekstraktının şeker içerikleri

Şekerler	AT
Arabinoz	-
Fruktoz	1.08±0.0005
Glukoz	0.45±0.0001
Sakkaroz	0.05±0.0001
Maltoz	0.0003±0.0001

AT: Armut

Yağ Asidi, Vitamin, Fitosterol, Flavonoid ve Resveratrol İçerikleri

Yağ asidi

Armut ekstraktlarının yağ asidi içerikleri incelendiğinde sırasıyla Çizelge 2; palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1) ve stearik asidin (18:0) bulunmadığı; oleik asit, (18:1), linoleik asit (18:2), linolenik asidin (18:3) bulunduğu ve 18:1, 18:3’ü az, 18:2’i kısmi düzeyler de içerdiği gözlemlendi (p<0.05, p<0.01). *S.cerevisiae* ile muamele edilmiş armut ekstraktlarının kontrol grubu armut ve *S. cerevisiae*’ya göre; 16:0, 18:0 miktarlarının çok yüksek seviyede, 18:1, 18:2, 18:3 miktarlarının çok önemli seviyede arttığı tespit edildi (p<0.001, p<0.0001). Bu durum probiyotik olarak kabul edilen *S. cerevisiae*’nın armut ekstraktı ile simbiyotik olarak bir arada bulunup, ortamdaki karbon kaynağından etkilenecek yağ asidi sentezinden sorumlu enzimleri aktive ettiğini göstermektedir. Böylece *S. cerevisiae*’nın gelişimini destekleyen bu ortamın yağ asidi içeriğinde yükselmeler gösterdiği sonucuna varıldı.

Çizelge 2. *S.cerevisiae* ile muamele edilen *Pyrus communis* L.’nin (armut), AT’nin ve SC’nin yağ asidi düzeyleri (µg g⁻¹)

Yağ Asidi	AT+SC	AT	SC
16:0	78.00±1.12 ^d	-	44.19±4.14
16:1	-	-	264.00±0.38
18:0	54.63±4.87 ^d	-	26.00±2.08
18:1	215.66±5.18 ^{cd}	17.40±0.05	125.00±0.05
18:2	260.56±24.75 ^{cd}	40.33±8.17	43.16±2.88
18:3	114.00±1.02 ^{cd}	19.00±3.49	43.23±4.34
Total µg g ⁻¹	722.56±35.40 ^{cd}	76.73±11.55	545.49±0.24

AT+SC: Armut +*S.cerevisiae*, AT: Armut, SC: *S.cerevisiae*, cd: p<0.0001

Fitosterol ve vitamin analiz içerikleri

Armut ekstraktları vitamin ve fitosterol içerikleri bakımından incelendiğinde Çizelge 3; K₁dışında K₂, D vitamini, α-tokoferol, δ-tokoferol, retinol ve retinol asetat fitosterollerden; stigmasterol, β-sitosterol, ergosterol'un bulunduğu saptandı. *S. cerevisiae* ile muamele edilen armut ekstraktlarının kontrol grubu armut ve *S. cerevisiae* ile kıyaslandığında; K₁, K₂ vitamini, retinol, stigmasterol içeriği bakımından farklılık görülmediği (p>0.05), α-tokoferol miktarının kısmi (p<0.01), D vitamini, δ-tokoferol, ergosterol miktarının çok anlamlı seviyelerde (p<0.0001) yükseldiği, retinol asetat, β-sitosterolün miktarının ise kısmi olarak azaldığı, (p<0.01) tespit edildi. Buna göre; armut ekstraktındaki vitamin ve fitosterol artışları; *S. cerevisiae*'nin gelişimini olumlu yönde etkilemesi, azalışların ise *S. cerevisiae*'nin armut meyvesindeki bu içeriği kullanması sonucu olduğunu gösterdi.

Flavonoid içerikleri

Armutta rutin, mirisetin, morin, kuarsetin, kamferol, kateşin, naringin, naringenin ve resveratrol'ün mevcut olduğu, bu bitkide rutin miktarının diğer fenolik bileşiklere kıyasla daha yüksek oranlarda bulunduğu belirlendi Çizelge 4. *S. cerevisiae* ile muamele edilen armut ekstraktında

ise; armuda göre (kontrol) kateşin de çok önemli seviyede artma gözlenirken (p<0.0001), rutin, mirisetin, morin, naringin, resveratrol ve kuarsetin, kamferol, naringenin de farklı seviyelerde azalma saptandı (p<0.0001, p<0.001, p<0.05). Sonuç olarak fenolik bileşiklerdeki azalmaların sebebi *S. cerevisiae*'nin armuttaki bu bileşikleri kullandığının bir belirtisidir. Kontrolde bulunmayan kateşinin, *S. cerevisiae* tarafından ortaya çıkarılması sonucu arttığı gözlemlendi. 10 farklı *Pyrus spp*'nin et ve kabuk kısımlarının kimyasal içeriği, antioksidan ve inflamatuvar etkisini inceleyen bir çalışmada; hem etli hem kabuklu kısımlarındaki arbutin, oleanolik asit, ursolik asit, klorogenik asit, epikateşin ve rutin içeriğinin yüksek olduğu ve armut kabuğunun mükemmel bir polifenol ve triterpen kaynağı olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark., 2014). *Pyrus communis* Linn örneğinde antioksidan, antibakteriyel, analjezik, sıkıştırıcı, spazmolitik, anti-enflamatuar ve idrar yolu ile ilgili teropatik gibi farklı etkinliklerden sorumlu bileşikler içerdiği aynı zamanda (Arbutin, quercetin, kaempferol, fredielin, steroller, isoquercitrin, ursolic asit, sorbitol, astragalın, phloridzin, çeşitli tanen) ve düşük sukroz içeriğinden kaynaklı diyabetlilerde kullanıldığı tespit edilmiştir (Rychlinska ve Gudej, 2002; Kaur ve Arya, 2012).

Çizelge 3. *S.cerevisiae* ile muamele edilen *Pyrus communis* L.'nin (armut), AT'nin ve SC'nin vitamin ve fitosterol düzeyleri (µg g⁻¹)

Lipofilik vitaminler ve fitosteroller	AT+SC	AT	SC
Vitamin K ₁	0.0011±0.0001 ^a	-	0.0022±0.0003
Vitamin K ₂	0.0006±0.00 ^a	0.0006±0.0001	0.0020±0.0007
Vitamin D	0.003±0.0001 ^{cd}	0.0003±0.001	0.0020±0.00007
α-Tokoferol	0.043±0.00006 ^c	0.0005±0.0001	0.040±0.0011
δ-Tokoferol	0.0011±0.001 ^{cd}	0.0004±0.0001	0.0005±0.0001
Retinol	-	0.0005±0.0002	-
Retinol Asetat	0.0001±0.00 ^c	0.0004±0.0001	0.0002±0.00
β-sitositerol	0.015±0.0014 ^c	0.044±0.007	0.31±0.008
Stigmasterol	0.019±0.0001 ^a	0.011±0.002	0.12±0.013
Ergosterol	0.015±0.001 ^{cd}	0.0020±0.0015	0.009±0.0006

AT+SC: Armut+S.cerevisiae, AT: Armut, SC: S. cerevisiae, cd: p<0.0001, c: p<0.01, a: p>0.05

Çizelge 4. *S. cerevisiae* ile muamele edilen *Pyrus communis* L.'nin (armut), AT'nin flavonoid ve resveratrol düzeyleri ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Flavonoidler	AT+SC	AT
Rutin	0.005±0.00 ^{cd}	0.041±0.00001 ^{cd}
Mirisetin	0.0003±0.0 ^d	0.0008±0.0002 ^c
Morin	0.00±0.00 ^d	0.0004±0.001 ^b
Kuarsetin	0.0001±0.00 ^b	0.0002±0.00 ^b
Kamferol	0.00±0.00 ^b	0.0001±0.00 ^b
Kateşin	0.002±0.00 ^{cd}	-
Naringin	0.00±0.00 ^d	0.0004±0.0002 ^b
Naringenin	0.00±0.00 ^b	0.0001±0.00004 ^b
Resveratrol	0.00±0.00 ^d	0.0004±0.00 ^b

AT+SC: Armut+S. cerevisiae, AT: Armut, cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, b: p<0.05

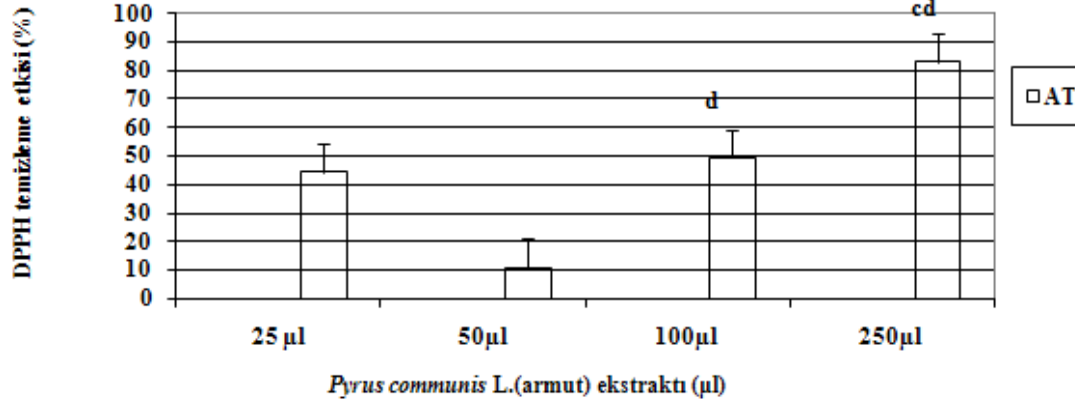
DPPH Radikal Temizleme Etkisi

Armutun DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikalini temizleme etkisi incelendiğinde; 100 μL 'lik konsantrasyonlardan başlayarak giderek artan bir antioksidan aktiviteye sahip ve bu ekstraktın en yüksek etkiyi 250 μL 'de gösterdiği, 250 μL 'lik konsantrasyonda ise azalma tespit edildi.

(Şekil 1). Yapılan bir çalışmada armut meyvesinin total fenolik bileşiklerinin yüksek seviyelerde olduğu, bunlar arasında klorojenik, ferulik, kumarik asit, arbutin ve epikateşin bulunduğu, ayrıca bu meyvenin etkin düzeylerde DPPH radikal temizleme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir (Salta ve ark. 2010). Armut meyvesi ile yapılan başka bir çalışmada da polifenol içeriği ve DPPH radikal temizleme aktivitesinde yükselmeler olduğu tespit edilmiştir (Faller ve Fialho, 2010). Ayrıca, armut meyvesinden elde edilen arbutin (hydroquinone- β -D-glucopyranoside) bileşiğinin antioksidan olduğu (Petkou ve ark., 2002), armut, elma ve şeftali meyvelerinde bulunan biyoaktif bileşenlerin içerikleri üzerine yapılan bir çalışmada ise total polifenol içeriğinin ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) sırasıyla; 0.22 ± 0.03 ; 0.68 ± 0.1 ve 0.23 ± 0.03 olduğu ve armut meyvesinde p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit bulunduğu, armut meyvesinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Leontowicz ve ark., 2002).

Antimikrobiyal Aktivite

Çalışmada kullanılan armut meyvesinin yağ asidi, vitamin, flavonoid ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal etkileri Çizelge 5'te verildi. *S. cerevisiae* ile muamele edilen *Pyrus communis* L.'nin (armut) yağ asidi, vitamin ve flavonoid ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri (mm) Çizelge 6'da verildi.



Şekil 1. *Pyrus communis* L. (armut)ekstraktlarının DPPH radikali temizleme aktivitesi (AT:Armut)

Probiyotik maya; *S. cerevisiae* ile ekstrakte edilmiş armut yağ asidi ekstraktının (AT+SC: Armut+*S. cerevisiae*), *K. pneumoniae* dışındaki bütün bakteri, maya ve dermatofit funguslarına karşı antibakteriyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu görüldü (8.66-24.33 mm inhibisyon zonu⁻¹). Negatif ve pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; farklı oranlarda antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görüldü. En yüksek etkiyi bakterilerden *S. aureus* da (24.33 mm), maya ve dermatofit funguslardan *C. glabrata* da (20 mm) ve *Epidermophyton* sp. (15.66 mm), *Trichophyton* sp. (21.66 mm) üzerinde gösterdiği belirlendi.

Armut meyvesinin (AT) yağ asidi ekstraktlarının çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarından tüm bakteri, maya ve fungusların gelişimlerini değişen oranlarda önlediği saptandı (8.66-27.66 mm inhibisyon zonu⁻¹). Bu ekstraktların özellikle gram (-) bakterilerden; *E. coli*, *K. pneumoniae* da(8.66 mm, 9.66 mm) çok düşük, gram (+) bakterilerden; *B. megaterium*, *S. aureus* da (27.66 mm, 20.66 mm) çok yüksek, mayalardan; *C. albicans*, *C. glabrata* da (15.66 mm, 13 mm) yüksek, funguslardan; *Epidermophyton* sp. de (20.66 mm) çok yüksek, *Trichophyton* sp. (9 mm) üzerinde çok düşük bir antibakteriyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Ayrıca *S. cerevisiae* yağ asidi ekstraktlarının ise özellikle maya ve dermatofit fungusların gelişimini engellediği belirlendi. Bakterilerden ise sadece *S. aureus*da etki gösterdiği saptandı Çizelge 6.

Armut meyvesindeki vitamin ekstraktlarının negatif ve pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; test mikroorganizmalarından tüm bakteri, maya ve fungusların gelişimlerini çok belirgin bir şekilde engellediği belirlendi (21.66-

34.66 mm inhibisyon zonu⁻¹). Armut meyvesinden hazırlanan *S. cerevisiae* bulunduran vitamin ekstraktlarının; *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. megaterium* dışındaki bakteri, maya ve dermatofit funguslar üzerinde çok düşük seviyede bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi (8 mm-9.66 mm) Çizelge 6. Ayrıca *S. cerevisiae* vitamin ekstraktlarının ise özellikle maya ve dermatofit fungusların gelişimini yüksek oranlarda (15.66 mm-20.66 mm), bakterilerin ise düşük ve kısmi oranlarda engellediği belirlendi (8 mm-11.66 mm) Çizelge 6. Bu durum *S. cerevisiae* ile muamele edilen armut ekstraktlarının, vitamin ve fitosterol içerikleri ile paralellik göstermektedir.

Armut flavonoid ekstraktları antibakteriyal ve antifungal aktivitelere göre incelendiğinde çok önemli düzeylerde bir etkinin olmadığı tespit edildi (8.66 mm-9 mm) (Çizelge 5). *S. cerevisiae* ile hazırlanmış armudun flavonoid ekstraktlarının ise sadece *C. albicans* (8 mm), *C. glabrata* da (9.66 mm), *Epidermophyton* sp. de (8.66 mm) çok düşük seviyelerde etkinin olduğu gözlemlendi (Çizelge 6). Sonuç olarak bu azalmalar; *S. cerevisiae* ile muamele edilen armut ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin azalmasıyla ilişkili olduğunun bir belirtisidir.

Çalışmamızda *S. cerevisiae* içeren armut ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde yağ asidi ekstraktlarının armut ve *S. cerevisiae* gruplarına kıyasla, kullanılan bakterilerin bazılarında, maya ve dermatofit fungusların tümünde belirgin ve değişen oranlarda farklılıklar olduğu görülürken, vitamin ve flavonoid ekstraktlarının ise yok denecek kadar az miktarlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Bu azalmaların nedeninin bu biyoaktif bileşiklerin *S.*

cerevisiae tarafından tüketilmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Armut ile yapılan bir çok araştırma elde edilen sonuçları destekler niteliktedir; Nitekim armut meyvesinin farklı ekstraktlarının; *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* ve *Escherichia coli* üzerinde değişen oranlarda etki gösterdiği yapılan çalışmalarla belirtilmiştir (Rosa

ve ark., 2009). *Pyrus communis* L., *Pyrus elaeagrifolia* Pall. and *Pyrus pyrifolia* (Bum.)'un yapraklarından elde edilen ekstraktların güçlü bir antibakteriyal etkiye sahip olduğu, *Candida albicans* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi mantarların ise tümüyle dirençli olduğu tespit edilmiştir (Sroka ve ark., 2014).

Çizelge 5. *Pyrus communis* L.'nin (armut) yağ asidi, vitamin ve flavonoid ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri (mm)

Mikroorganizmalar	AT			Negatif Kontrol		Pozitif Kontrol Standart
	Yağ Asidi	Vitamin	Flavonoid	Metanol	Hekzan	
<i>E. coli</i>	8.66±0.33 ^b	31.66±0.33 ^{cd}	9.00±0.50 ^c	-	15.33±0.3	10.3±0.3**
<i>K. pneumoniae</i>	9.66±0.33 ^b	34.66±0.33 ^{cd}	-	-	14.6±0.3	9.6±0.3**
<i>B. megaterium</i>	27.66±0.33 ^{cd}	34.66±0.33 ^{cd}	9.00±1.00 ^c	-	13.0±0.6	13.3±0.3**
<i>S. aureus</i>	20.66±0.33 ^{cd}	31.66±0.33 ^{cd}	-	-	12.3±0.3	9.3±0.3**
<i>C. albicans</i>	15.66±0.33 ^d	28.66±0.33 ^{cd}	8.66±0.33 ^c	-	17.0±0.0	18.0±0.6*
<i>C. glabrata</i>	13.00±0.57 ^d	32.66±0.33 ^d _{cd}	-	-	11.0±0.0	12.6±0.3*
<i>Epidermophyton sp.</i>	20.66±0.33 ^{cd}	22.66±0.33 ^d	-	-	9.3±0.3	NT
<i>Trichophyton sp.</i>	9.00±0.57 ^b	21.66±0.33 ^d	-	-	17.3±0.3	NT

Standart: *:Nystatin (Antifungal, 30 µgdisc⁻¹), **:Streptomycin sulphate (antibakteriyal,10 µgdisc⁻¹), Kontrol (negatif kontrol: metanol ve hekzan): 10 µL, NT: test edilmedi, cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, b: p<0.05

Çizelge 6. *S. cerevisiae* ile muamele edilen *Pyrus communis* L.'nin (armut) yağ asidi, vitamin ve flavonoid ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri (mm)

Mikroorganizmalar	AT+SC			SC	
	Yağ Asidi	Vitamin	Flavonoid	Yağ Asidi	Vitamin
<i>E. coli</i>	8.66±0.33	-	-	-	9.66±0.33
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	11.66±0.33
<i>B. megaterium</i>	9.66±0.33	-	-	-	8.00±0.00
<i>S. aureus</i>	24.33±0.66 ^{cd}	8.00±0.00	-	8.00±0.00	15.66±0.33 ^{cd}
<i>C. albicans</i>	10.66±0.33	9.66±0.33	8.00±0.00	18.66±0.33 ^{cd}	15.66±0.33 ^{cd}
<i>C. glabrata</i>	20.00±0.57 ^{cd}	9.00±0.57	9.66±0.33	9.66±0.33	15.66±0.33 ^{cd}
<i>Epidermophyton sp.</i>	15.66±0.33 ^{cd}	9.66±0.33	8.66±0.33	27.66±0.33 ^{cd}	20.66±0.33 ^{cd}
<i>Trichophyton sp.</i>	21.66±0.33 ^{cd}	9.00±0.57	-	9.66±0.33	19.66±0.33 ^{cd}

cd: p<0.0001

Ayrıca daha önceki araştırmalarında belirttiği gibi bir bitkinin antimikrobiyal aktivitesi kullanılan besiyeri, bitkinin toplanma zamanı, coğrafik orjin, iklim, mikroorganizma çeşidi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Ceylan ve Fung, 2004). Bu yüzden kullanılan armut ekstraktlarının farklı antimikrobiyal aktivite gösterebileceği çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir. Buna göre elde edilen bu verilerin yapılan yağ asidi, vitamin ve fitosterol, flavonoid ve resveratrol analizi ile paralel sonuçlar gösterdiği ortaya çıkmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye önemli bir tarım potansiyeline sahip olması nedeniyle diyet lif kaynakları bakımından zengin bir ülkedir. Hatta Ülkemizdeki gıda işletmelerinin üretim artıkları en önemli diyet lif kaynaklarını oluşturmaktadır. Bu üretim artıklarının kullanımı ile atık kaynakların değerlendirilmesi ve gıda ürünlerine değişik lif kaynakları ilave edilerek yeni ürünler geliştirmesi hem toplumumuzun sağlıklı beslenmesine hem de gıda sanayimizin gelişmesine önemli katkıda bulunacaktır (Dönmez ve ark., 2010).

Peynir, yoğurt, puding, dondurma ve dondurulmuş tatlılar gibi süt ürünlerinde de lif içeriği yüksek ingrediyenler kullanım alanı bulmaktadır. Lif içeriği yüksek süt ürünleri üretiminin temelinde, yağ ve kolesterol miktarı azaltılarak daha sağlıklı ürünler pazarlamak ve kalsiyumun yanı sıra sağlığı etkileyen yeni bileşenler kazandırmak yatmaktadır. Bu ingrediyenler süt ürünlerine temel olarak stabilizasyonu sağlama, kıvamı arttırma, yağı ikame etme, kaloriyi azaltma ve hacim sağlama amaçları ile ilave edilmektedir (Nilüfer ve Boyacıoğlu, 2003).

Sağlık üzerine olumlu etkileri olan bazı kimyasal bileşikler doğal olarak içeren gıdalar prebiyotik olarak bilinen tahıllar, meyve ve sebzelerdir (Nehir El, 2009). Prebiyotikler, vücuda yararlı mikroorganizmalar için enerji kaynağı olduğundan, prebiyotik ve probiyotikleri birlikte bulunduran ürünler alındığında probiyotiklerin daha uzun süre canlı kalacağı, additif ve hatta sinerjistik etki ortaya çıkabileceği varsayılmaktadır (Çoşkun, 2006).

Besinsel liflerin sağlık üzerine olumlu etkileri pek çok araştırmaya konu olmuştur (Prosky, 2000a; Prosky 2000b). Lifli bir meyve olan armudun biyoaktif bileşenler ve etkileri üzerine (yağ asidi, vitamin ve fitosterol, flavonoid ve resveratrol, DPPH) çalışmalar yapılmasına karşın, bu lifli

gıdanın probiyotik maya olan *S. cerevisiae* gelişimine etkileri ve bu maya üzerindeki etkiyi belirleyen çalışmalara rastlanılmamıştır. Ancak bu yönde pre ve probiyotik ilişkisi bakımından yapılan iki çalışma mevcuttur (Erecevit, 2013a; Erecevit, 2013b).

Elde edilen verilere göre; armut meyvesinin, çalışmamızda kullanılan sağlık açısından yararlı probiyotik maya olarak kabul edilen *S. cerevisiae* gelişimine olumlu yönde etkilerinin olduğu, bu meyveden elde edilen ekstraktın içerisinde gelişen *S. cerevisiae*'nın, biyoaktif bileşiklere değişen oranlarda etki gösterdiği saptandı. Böylece bitkisel olarak beslenmenin, uzun ve sağlıklı yaşam için gerekli olan probiyotikler üzerine yapacağı olumlu etki (bitki-probiyotik ilişkisi) bakımından çalışmanın önemi vurgulandı. Ayrıca; bitkisel lif kaynaklı besinlerle çoğaltılan probiyotik mayalardan elde edilen ekstraktlarında, patojen bakteri ve maya ve dermatofit funguslar üzerine olan etkilerinin de saptanması bu konuda yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacak niteliktedir.

Teşekkür

Bu çalışma, FÜBAP Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinatörlüğü (1909 nolu proje) tarafından desteklenmiştir. Çalışmalarımız sırasında teknik desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ökkeş Yılmaz'a teşekkürü borç bilirim.

KAYNAKLAR

- Aydın, S.**, 1999. The effect of nitrite on enhancement of alpha-amylase synthesis afforded by bacterialhemoglobin in genetically engineered *E. coli*. *Illinois Institute of Technology*, Sikago-USA, 21pp.
- Alltech Chromatography**, 2004. A Grace Company Catalog 600, Alltech. *Associates. Inc. U.S.*, 497 s.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.**, 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28:25-30.
- Ceylan, E., Fung, D.Y.C.**, 2004. Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation In Microbiology*, 12:1-55.
- Christie, W.W.**, 1992. Gas chromatography and lipids. *The Oil Pres.*, Glaskow 302 pp.
- Collins, C.M., Lyne, P.M.**, 1987. Mikrobiyological methods. *Butter Morths & Co (Publishers) Ltd.*, London 450 pp.
- Çelik, L.**, 2007. Kanatlı hayvanların beslenmesinde verim artışı sağlayıcı ve ürün kalitesini iyileştirici doğal organik etkili maddeler. *Yem Magazin*, 47:51-55.

- Çelik, E.E.**, 2013. Besinsel liflere bağlı biyoaktif maddelerin antioksidan kapasitesi ve rejenerasyon davranışının quencher metoduyla belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 10 s.
- Çoşkun, T.**, 2006. Pro-Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49:128-148.
- Dönmez, M., Cankurtaran, M., İlseven, S., Sancak, N., İpekçioğlu, P., Turan, A.R.**, 2010. Diyet lifleri ve insan sağlığı üzerindeki etkileri. *MYO-OS 2010-Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu*, Düzce, 21-22 Ekim, 1-9s.
- Erecevit, P., Kırbağ, S., Yılmaz, Ö.**, 2013. Determination of phytochemical characteristics of *Zea mays* (corn) extracted with *Saccharomyces boulardii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49:12-16.
- Erecevit, P., Kırbağ, S., Zengin, F.**, 2013. Determination of phytochemical contents of *Avena sativa* (oat) and its impact on *Debaryomyces hansenii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84:365-371.
- Eren, Z., Gürol, Y., Sönmezoğlu, M., Eren, H.Ş., Çelik, G., Kantarcı, G.**, 2014. Probiyotik tedaviden sonra yaşlı bir hastada gelişen *Saccharomyces cerevisiae* fungemisi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48:351-355.
- Faller, A.L.K., Fialho, E.**, 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6):561-568.
- Hara, A., Radin, N.S.**, 1978. Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90:420-426.
- Hsu, B., Coupar, I.M., Ng, K.**, 2006. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the doum palm, *Hyphaene thebaica*. *Food Chemistry*, 98:317-328.
- Jespersen, L.**, 2003. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS Yeast Research*, 3:91-200.
- Kaleli, İ.**, 2007. Probiyotiklerin etki mekanizması. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 21:238-242.
- Karademir, G., Ünal, Y.**, 2008. Broilerde kefirin probiyotik amaçla kullanılması. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 49:47-54.
- Katsanidis E, Addis P.B.**, 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue, *Free Radical Biology & Medicine*, 27:1137-1140.
- Kaur, R., Arya, V.**, 2012. Ethnomedicinal and phytochemical perspectives of *Pyrus communis* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(2):14-19.
- Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leontowicz, M., Ciz, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y., Jung, S.T. Trakhtenberg, S., Martin-Belloso, O.**, 2002. Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:603-610.
- Li, X., Wang, T., Zhou, B., Gao, W., Cao, J., Huang, L.**, 2014. Chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory potential of peels and flesh from 10 different pear varieties (*Pyrus* spp.). *Food Chemistry*, 152:531-538.
- Lopez-Cervantes, J., Sanchez-Machado, D.I., Rios-Vazquez, N.J.**, 2006. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, α -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate, *Journal of Chromatography A*, 1105:135-139.
- Morzouk, M.S., Moustafa, M.M., Mohamed, N.M.**, 2008. The influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora of *O. niloticus*. *8 th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Cairo, Egypt, 12-14 October, p 1059-1071.
- Nehir El, S.**, 2009. Ürün geliştirmede optimal beslenme yaklaşımı. [http://food.ege.edu.tr/RN_GEL\[1\].OPT.BES.YAKLAIMIDERSNOTU.pdf](http://food.ege.edu.tr/RN_GEL[1].OPT.BES.YAKLAIMIDERSNOTU.pdf), 17. 02. 2009.
- Nilufer, D., Boyacıoğlu, D.**, 2003. Süt ürünlerinde diyet liflerinin ingredient olarak kullanımı. *SEYES Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu*, İzmir, 22-23 Mayıs.
- Ouwehand, A.C., Seppo, N.P., Salminen, J.**, 1999. The normal faecal microflora does not affect the adhesion of probiotic bacteria in vitro. *FEMS Microbiology Letters*, 177:35-38.
- Özçelik, S.**, 1992. Gıda mikrobiyolojisi laboratuvar kılavuzu. *Fırat Üniv. Fen-Edebiyat Fak.Yayın.*, No:1, Elazığ 85s.
- Petkou, D., Diamantidis, G., Vasilakakis, M.**, 2002. Arbutin oxidation by pear (*Pyrus communis* L.) peroxidases. *Plant Science*, 162:115-119.
- Prosky, L.**, 2000a. When is dietary fiber considered a functional food? *Biofactors*, 12:289-297.
- Prosky, L.**, 2000b. What is dietary fiber? *Journal of AOAC International*, 83:985-987.
- Rosa, M., Massilia, R., Melgar, J.M., Belloso, M.O.**, 2009. Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control*, 20:105-112.
- Rychlinska, I., Gudej, J.**, 2002. Flavonoids compounds from *Pyrus communis* L. flowers, *Acta Polonica Pharmaceutica-Drug Research*, 59:1, 53-56.

- Salta, J., Martins, A., Santos, R.G., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Justino, J., Router, A.P.,** 2010. Phenolic composition and antioxidant activity of Rocha pear and other pear cultivars A comparative study. *Journal of Functional Foods*, 2:153-157.
- Sroka, Z., Żbikowska, B., Janicki, K., Franciszek, R., Krzyzanowska, B., Drys, A.,** 2014. Antimicrobial and antiradical activity of extracts obtained from leaves of three species of the genus *pyrus*. *Microbial Drug Resistance.*, 20:337-343.
- Turan, İ., İltter, T.,** 2007. Kafkas dağlarından Günümüze: Kefir. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 11:65-75.
- Tvrzicka, E., Vecka, M., Stankova, B., Zak, A.,** 2002. Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography flame ionisation detection quantitative aspects, *Analytica Chimica Acta*, 465:337-350.
- Uylaşer, V.,** 2004. Boza Mikroflorasını Oluşturan Bazı Mikroorganizmalar ve Probiyotik Etkileri. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, Van, 23-24 Eylül, 428-431.
- Yağcı, R.V.,** 2005. Probiyotikler ve Prebiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 9:223-225.
- Yılmaz, M.,** 2004. Probiyotik ve Probiyotikler. *Güncel Pediatri*, 2:142-145.
- Yücecın, S.,** 2008. Optimal Beslenme, Klasmat matbaacılık, Ankara, No:726, 13s.
- Zu, Y., Li, C., Fu, Y., Zhao, C.,** 2006. Simultaneous determined of catechin, rutin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:714-719.