



Prebiyotik Oligosakkaritlerin Kaynakları, Üretimleri ve Gıda Uygulamaları

Mehmet Demirci^{1*} Osman Sağdıç², Mustafa Çavuş³, Halime Pehlivanoglu¹ Muhammed Yusuf Çağlar¹, Mustafa Tahsin Yılmaz²

¹ İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Halkalı-İstanbul

² Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Davutpaşa Kampüsü, Esenler-İstanbul

³ Iğdır Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Iğdır

(Dergiye gönderilme tarihi: 03 Nisan 2017, Kabul Tarihi: 11 Temmuz 2017)

Öz

Oligosakkaritler, uzun yıllardır eczacılıkta ilaç takviyesi, kilo kontrol ajanı ve diyet lifi olarak; gıda endüstrisinde ise tatlandırıcı, nem tutucu ve kabartıcı ajan gibi farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Son yıllarda prebiyotik özelliğe sahip oligosakkaritlerin, bağırsak florasında bulunan konakçılar için önemli katkılar sağladığının ortaya konması, fonksiyonel gıda araştırmacılarının dikkatlerini bu konuya çekmiştir. Bu derlemede prebiyotik bileşiklerin büyük bir bölümünü oluşturan oligosakkaritlerin önemi, bulunduğu kaynaklar, elde ediliş yöntemleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Oligosakkaritler, kaynakları, elde ediliş yöntemleri, fonksiyonel gıdalar.

Sources, Production and Food Applications of Prebiotic Oligosaccharides

Abstract

Oligosaccharides have been extensively used for different purposes such as drug supplement, weight controlling agent and dietary fiber in pharmacy and as sweetener, humectant and bulking agent in food industry. Recently, revelation of the fact that oligosaccharides having prebiotic properties make an important contribution to the host flora in intestines, has called the attention of functional food researchers to this topic. In this review, the importance, the resources, obtainment methods and the potential use of oligosaccharides constituting the majority of prebiotics in functional foods were mentioned.

Keywords: Oligosaccharides, resources, obtainment methods, functional foods.

1. Giriş

Prebiyotik tanımı ilk defa 1995 yılında, Gibson ve Roberfroid tarafından yapılmıştır (Rolim, 2015). Prebiyotikler, insan ince bağırsağında enzimler tarafından sindirilmeden direkt olarak kalın bağırsağa geçen ve bağırsak florasında bulunan yararlı bakterilerin seçimli olarak (Rolim, 2015) çoğalmasını ve/veya aktivitelerini artırarak bu mikroorganizmalardan metabolizmanın en iyi şekilde faydalanmasını sağlayan fermente olmuş besin bileşenleri olarak tanımlanmaktadır (Roberfroid, 2007; Al-Sheraji ve ark., 2013; Bindels ve ark., 2015). Dirençli kısa zincirli karbonhidratlar olarak da adlandırılan prebiyotikler, insan metabolizmasındaki sindirim enzimleri tarafından

sindirilemezler (Li ve ark., 2007; Wang, 2009). Prebiyotikler bağırsak florasındaki mikroorganizmalar olmaksızın da immünomodülatör (bağışıklık sisteminin gücünü artırma veya azaltma yoluyla bağışık sisteminin yanıtını değiştiren ajan) olarak görev yapabilmektedir (Kunová ve ark., 2011).

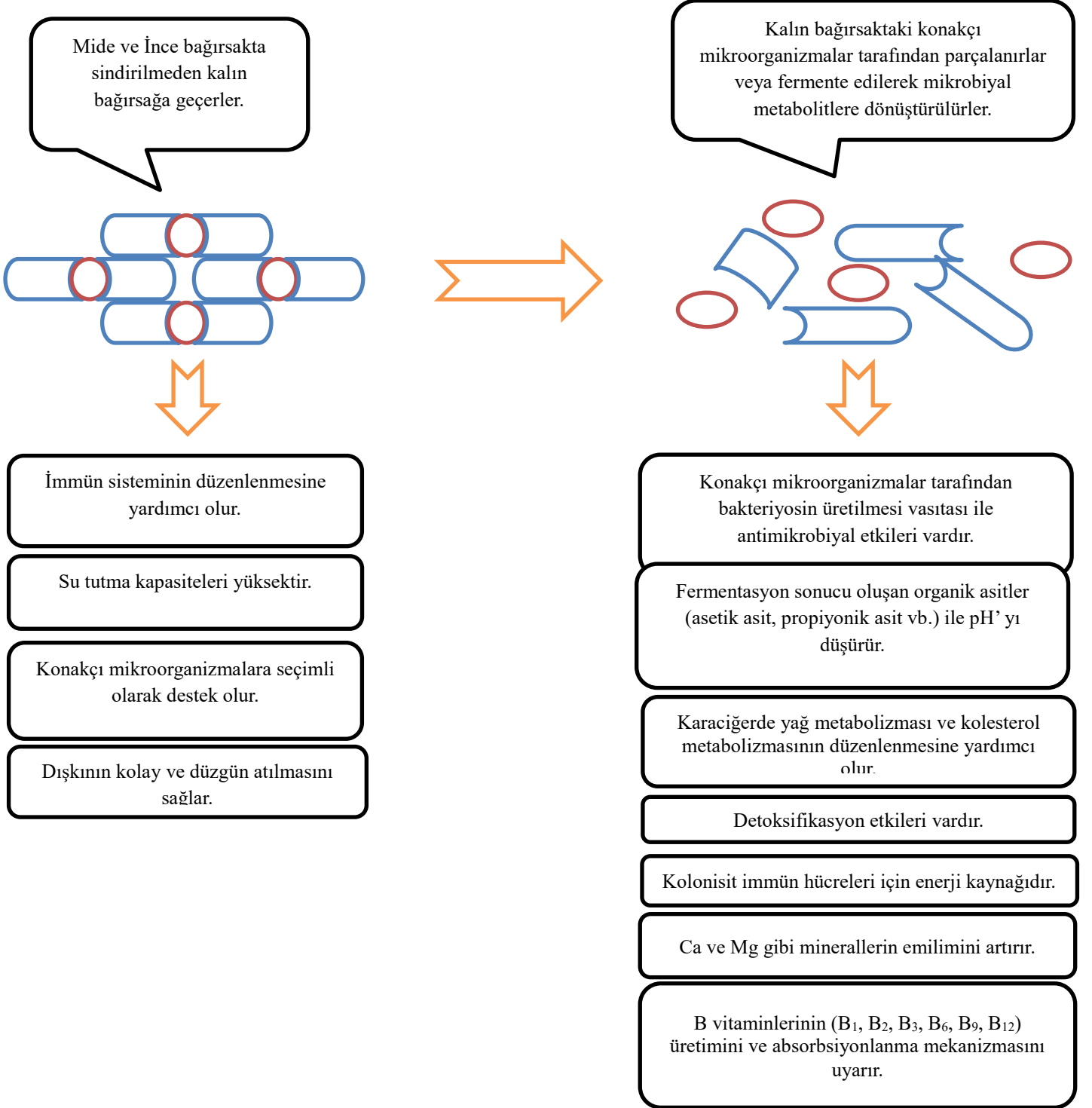
Prebiyotiklerin tüketimi, bağırsak enfeksiyonuna bağlı ishalin önlenmesi, kalsiyumun alımının artırılması sonucu osteoporozun önlenmesi, obezite ve tip2 diyabet riskinin azaltılması, toksik ürünlerin nötralizeasyonu sonucunda kolon kanser riskinin azaltılması, immün sisteminin düzenlenmesi ve ürogenital sistemin korunması gibi belli başlı hastalıkların oluşma risklerinin azaltılmasında etkili olmaktadır (Oliveira ve ark., 2011).

¹ Sorumlu Yazar: İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Küçükçekmece, 34303, İstanbul, mehmet.demirci@izu.edu.tr

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın yapmış olduğu tanımlamaya göre prebiyotik, bağırsak florasındaki konakçı mikroorganizmaların seçimli olarak büyüme ve gelişmesine katkı sağlayan gıda bileşenidir. Bu açıklamadan bir prebiyotiğin lif olabileceği fakat bir lifin prebiyotik olamayacağı anlamı çıkmaktadır (Phillips, 2013; Bindels ve ark., 2015). İnsan

enzimleri tarafından sindirilemeyen karbonhidrat moleküllerinin yanı sıra dirençli nisasta ve şeker polioller de prebiyotik özellik göstermektedir (Al-Sheraji ve ark., 2013).

Bir gıda bileşeninin prebiyotik olarak sınıflandırılabilmesi için (Şekil 1),



Şekil 1. Prebiyotiklerin Metabolizmadaki davranışları

- Üst gastrontestinal bölgede hidrolize ve absorbe olmamalı,
- Bağırsağa ulaştığında probiyotik mikroorganizmalar tarafından seçici bir biçimde metabolize olmalı,
- Bağırsak mikroflorasının gelişmesine katkı sağlamalı ve aktivitesini arttırmalıdır (Manning ve Gibson, 2004; Roberfroid, 2007; Oliveira ve ark., 2011; Slavin, 2013).

Bir prebiyotik kolona ulaştıktan sonra metabolizmada,

- Bağırsak mikroflorasını desteklemeli ve bağırsak geçiş mekanizmasını uyarmalı,
- Normal dışkı kıvamı, ishal ve kabızlığın önlenmesi hususunda kolonik mikroflorayı değiştirmeli,
- Glukoz ve kolesterol gibi maddelerin miktarını dengelemeli, yalnızca ihtiyaç olan maddelerin absorpsiyonunu desteklemeli,
- Bifidobakteriler ve laktobasillerin gelişimini ve çoğalmasını desteklemeli,
- B vitaminlerinin (B₁, B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂) üretimini ve absorpsiyon mekanizmasını uyarmalı,

- Bağışıklık sistemini desteklemeli,
- Obezitenin kontrolüne katkı sağlamalı,
- Osteoporoz oluşma riskini azaltmalıdır (Oliveira ve ark., 2011).

Ekzojen prebiyotiklere ilave olarak insan vücudu büyük oranlarda müsin formunda endojen prebiyotikler de üretmektedir. Özellikle anne sütünde bebeklerin mikroflorasını olumlu yönde etkileyecek oligosakkaritler bulunmaktadır ve bu oligosakkaritler “ilk ve orijinal prebiyotik” olarak kabul edilirler (Tuohy ve ark., 2005; O'Donnell ve Kearsley, 2012).

Prebiyotiklerin büyük çoğunluğu oligosakkaritler ve polisakkaritlerdir, fakat bazı şeker alkoller, modifiye karbonhidratlar ve şeker poliollerinin de prebiyotik özellik gösterdiği ifade edilmiştir (Gibson, 2004; O'Donnell ve Kearsley, 2012; Al-Sheraji ve ark., 2013). Sağlığa olan önemli katkılarının yanı sıra prebiyotikler gıda endüstrisinde de çeşitli fonksiyonel amaçlar için kullanılmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Prebiyotiklerin Gıda Uygulamaları (Wang, 2009)

Uygulanan Gıda	Fonksiyonel Özellikler
Yoğurt ve tatlılar	Şeker ikamesi, tekstür, hoş tat ve lif
Alkollü alkolsüz içecekler	Şeker ikamesi, tekstür, hoş tat, köpük ve stabilizatör
Hamur ürünleri (ekmek)	Yağ ya da şeker ikamesi, tekstür, hoş tat ve lif
Et ürünleri	Yağ ikamesi, tekstür, hoş tat ve lif
Diyetetik ürünler	Yağ ya da şeker ikamesi, tekstür, hoş tat ve lif
Kek ve bisküvi	Şeker ikamesi, tekstür, nem dengeleyici, hoş tat ve lif
Çikolata	Şeker ikamesi, ısıl direnç, tekstür
Şekerleme	Şeker ikamesi, tekstür, hoş tat ve lif
Çorba ve soslar	Şeker ikamesi
Bebek mamaları	Tekstür, hoş tat ve stabilizatör
Peynir	Yağ ikamesi (inülin)

Başta çeşit ve dizi olmak üzere yapısındaki monosakkaritler bakımından da farklılık gösteren birçok prebiyotik bulunmaktadır. Oligosakkaritler (OS) 3 ile 10 arası sakkarit uzunluğuna sahip şekerlerdir (Andersson ve ark., 2001). bileşenler, çeşitli bitkilerde doğal olarak bulunabilmekle birlikte enzimatik, hidrolitik ya da hidrotermal proses sonucu elde edilebilmektedir (Brannon, 2003; Gibson, 2004).

Fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS) ve izomaltooligosakkaritler (IMO) gibi prebiyotiklerin çoğu, birçok bitki ve alg polisakkaritlerinden ya doğrudan izole edilir ya da çeşitli prosesler (enzimatik işlemler gibi) ile sentezlenir (O'Donnell ve Kearsley, 2012; Saad ve ark., 2013).

Stowell (2007) prebiyotikleri gelişmiş ve gelişmekte olan prebiyotikler olarak 2 sınıfa ayırmıştır. İnülin, FOS, GOS, laktuloz ve polidekstroz gelişmiş prebiyotikler olarak tanımlanırken, IMO, ksilooligosakkaritler ve laktitol ise gelişmekte olan prebiyotikler olarak sınıflanmaktadır. FOS ve inülin, üzerinde en fazla çalışılmış prebiyotiklerdir. Bunları GOS ve laktuloz takip etmektedir (van Loo, 2004).

1.1.Oligosakkaritler

Oligosakkaritlerin 1980 'lerden beri düşük kalorili kabartma ajanı olarak ticareti yapılmaktadır. Son yıllarda, fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda ve eczacılık sektöründe daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Prebiyotik oligosakkaritlerin gıda

çeşitli gıda uygulamaları Tablo 2' de verilmiştir. OS, polimerizasyon derecesi (PD) 3 ile 10 arasında değişen sakkaritlerden oluşan düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlardır (Weijers ve ark., 2008). Oligosakkaritlerde monosakkarit

ünitelerinin anomerik C atomları (C1 ya da C2) insan sindirim enzimlerinin hidrolitik aktivitesine karşı dirençli olan asidik bağlara sahiptir (Roberfroid ve Slavin, 2000).

Tablo 2. Prebiyotik Oligosakkaritlerin Fonksiyonel Gıdalarda Kullanımı

Oligosakkarit Adı	Kullanıldığı Gıda	Elde Edilen Sonuçlar	Referans
1	Domuz budunda kullanılan fosfat ve dekstroz yerine ikame madde olarak kullanılmıştır.	Duyusal analiz ve görünüş bakımından çok az bir değişme olsa da tüketiciler tarafından daha sağlıklı, doğal ve yeme kalitesini artırdığını belirtmişlerdir.	Resconi ve ark., 2015
2	Yenilebilir MC bazlı filmlerde laktik asit bakterilerini taşıyıcı olarak kullanılmıştır	Laktik asit bakterilerinin muhafazada başarılı olmuştur. Aynı zamanda immobilize edici ajan olarak kullanılmaya uygundur.	Romano ve ark., 2014
3	Somon ekmekte kullanılmıştır.	Ekmek hacmini düşürmüş, ekmek içinin sertliğini artırmış ve kabuğun daha koyu olmasını sağlamıştır.	Morris ve Morris, 2012
4	Fruktooligosakkaritler Yumuşak (kremleştirilmiş) sütlü çikolatalı tatlılarda kullanılmıştır.	Sinerisis gözlemlenmemiş, raf ömrü boyunca fruktonlar gözlemlenmiştir. Aynı zamanda tat karakteri gelişmiştir.	Valencia ve ark., 2016
5	Elmada ozmotik ajan olarak kullanılmıştır	Sükroza göre daha az su kaybı olmuştur.	Matussek ve ark., 2008
7	Dondurma	Erime zamanı, erime sıcaklığı ve yağ ve su arasındaki etkileşim ve ayrılma süresini kayda değer bir biçimde artırmıştır.	Balthazar ve ark., 2017
8	Ananas, mango ve portakal suyu	Vizkoziteyi artırmıştır. En yüksek konsantrasyonda bile herhangi bir olumsuz görüntüye neden olmamıştır.	Freitas ve Jackix, 2004
9	Galaktooligosakkaritler Bütün halde pişmiş jambon	Şeker içeriğini azaltmak veya tamamen kaldırmak için formülasyonda kullanılmıştır. Olumlu sonuçlar alınmıştır.	Passos ve Park, 2003
10	Bisküvi	Dekstroz yerine kullanımı çok az bir şekilde duyusal özellikleri etkilemiştir. Renk değerlerini etkilememiştir. Bisküvinin aromasında herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır.	Resconi ve ark., 2016
11	Ksilooligosakkaritler Yoğurt, şekerleme, ekmek ve içeceklerde	Toplam kaliteyi olumlu etkilemiştir. pH, toplam çözünür madde ve titre edilebilir asitlik ve renk üzerinde herhangi bir olumsuz değişiklik olmamıştır. Enzimatik ve mikrobiyal bozulma 4-6 ay arasında görülmemiştir.	Renuka ve ark., 2009
12	Ekmek Üretimi	Ekmek üretimi esnasında, hamura katılan ksilanaz enzimleri (X11 ve X12) ile hamurda bulunan ksilandan ksilooligosakkarit üretilerek hamurdaki KSO miktarı artırılmıştır. Bunun sonucunda ekmeğin daha yumuşak ve daha hacimli olduğu bildirilmiştir.	Carvalho ve ark., 2017
13	Rafinoz ailesi oligosakkaritleri	Somon ekmekte kullanılmıştır. Tesktür ve organoleptik özelliklerine katkı sağlamıştır. Pişirme sonrası sindirimde glukoz salınımını azaltmıştır.	Ishwarya ve Prabhasankar, 2013

Prebiyotik oligosakkaritler; bitkilerden izolasyon, mikrobiyal ya da enzimatik sentez ve polisakkaritlerin enzimatik hidrolizi olmak üzere 3 farklı metotla üretilmektedirler (Gulewicz ve ark., 2003). Son yirmi yılda glukoz-oligosakkaritler, kito-

oligosakkaritler ve agar-oligosakkaritleri gibi birçok oligosakkarit için patent çalışmaları yapılmıştır (Ziemer ve Gibson, 1998).

Oligosakkaritler önemli fizyokimyasal ve fizyolojik özellikler göstermenin yanı sıra diyet lifi ve prebiyotiktir. OS 'ce

zengin diyetler bağırsak mikrobiyotasını geliştirir. Endojen bakteriler tarafından bağırsakta fermente olarak enerji üretir, metabolik substrat görevi yapar, laktik asit ve kısa zincirli yağ asitlerine dönüşür (Quigley, 2010). Bu bileşikler probiyotiklerin gelişimine katkıda bulunur (Qiang ve ark., 2009).

OS'in fermentasyonunda doğrusal ya da dallanmış formda olması önem arz etmektedir. Düz zincirli oligosakkaritler, dallanmış yapıdaki oligosakkaritlere oranla daha fazla parçalanmaktadır ve bifidobakteriler de düşük PD 'ne sahip karbonhidratları kullanmaktadır (Cummings ve ark., 2001; Al-Sheraji ve ark., 2013).

OS, sukrozun 0.3-0.6 katı tatlılık gösterirler ve bu özelliklerinden dolayı gıda formülasyonlarında sukroz alternatifi olarak kullanılırlar. Ayrıca düşük kalorili olmasından dolayı OS, gıda formülasyonlarında kabartıcı ajan olarak kullanılır. Su aktivitesini arttırmadan yüksek nem çekme özelliği olduğundan nem tutucu olarak da kullanılır. Mono- ve di-sakkaritler ile kıyaslandığında yüksek molekül ağırlıklarından dolayı daha viskozduurlar. OS'in stabilitesi şeker içeriğine, halka yapısına, anomerik konfigürasyona ve bağlanma tipine göre değişiklik göstermektedir. Genellikle β - bağlanmalar α - bağlanmalara, heksozlar pentozlara oranla daha dirençlidir. Düşük pH ve yüksek sıcaklık OS'ların fizikokimyasal özelliklerini bozmakta ve besinsel değerini düşürmektedir. OS yapısal olarak oligopeptitlerden ve oligonükleotitlerden daha fazla çeşitlilik göstermektedir (Raman ve ark., 2005; Patel ve Goyal, 2011).

1.2. OS 'in Yapısal Analizi ve Tanımlanması

OS 'in fiziko-kimyasal özellikleri ile fonksiyonel özellikleri arasındaki sıkı ilişkinin anlaşılması için yapılarının iyi tespit edilmesi gerekmektedir. Yapısal analizler, oligosakkaritleri oluşturan monosakkaritlerin dizilimi, bağlanması, dallanması ve anomerik konfigürasyonunun ortaya konması ile belirlenir (Patel ve Goyal, 2011). İnce tabaka kromatografisi, OS'in PD'nin tespitinde kullanılır. Kullanılan analitik metotlar arasında en gözdesi, kesin sonuç vermesi, analitik çeşitlilik ve yüksek hassasiyet gibi özelliklerinden dolayı kütle spektrometresidir. Son yıllarda hızlı atom bombardıman tekniği, elektrosprey iyonizasyon ve matriks-yardımlı lazer desorpsiyon/iyonizasyon (MALDI) tekniğinin yerini almıştır (Cmelik ve Chmelik 2010).

Bunların yanı sıra metilasyon analizi, MALDITOF-MS ve NMR teknikleri de yapısal analiz için kullanılabilir (Okada ve ark., 2010). OS, carbon-Celite kolon kromatografisi ve HPLC kullanılarak izole edilmektedir. Kantitatif olarak OS tayininde, UV-diod dizi dedektörlü kapiler elektroforez, vurgulu amperometrik dedektörlü yüksek-performans iyon değişim kromatografisi, refraktif indeks dedektörlü yüksek performans kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, kütle spektrometresi ve yapay nöral ağlar ile kombine edilmiş UV-spektrofotometresi kullanılmaktadır (Dias ve ark., 2009). Ksilooligosakkaritlerin Yüksek etkileşimli kromatografi - Evaporatif ışık saçılım dedektörü ((High Interaction Chromatography- Evaporative Light Scattering Detector (HILIC-ELSD)) ile daha hızlı, güvenli ve türevlendirme yapılmadan tanımlanmasının yapılabileceği bildirilmektedir (Pu ve ark., 2017). Huanhuan ve ark. (2015) Elektrosprey İyonizasyon-kütle spektrometresi ile kalitatif ve kantitatif olarak oligosakkaritlerin yapısal analizini gerçekleştirmişlerdir.

1.3. Prebiyotik Oligosakkaritler

1.3.1. Fruktooligosakkaritler (FOS)

FOS, 3 ile 10 arası monosakkaridin (en sondaki früktoz ve glukoz) α -glikozidik (1-2) bağlar ile bağlanması sonucu meydana gelir (Oliveira ve ark., 2011). FOS 'lerde bu değer <10 iken inülinde 2-10 arasındadır. İnülin (PD 3–60), oligofruktoz (PD 2–20) ve FOS arasındaki farklılık PD'den kaynaklanmaktadır (Spiegel ve ark., 1994; Carabin ve Flamm, 1999). FOS, β -fructofuranosidaz enzimi vasıtası ile inülinde elde edilebilir. Bu işlem transfruktosilasyon olarak adlandırılmaktadır (Aachary ve Prapulla, 2009; Oliveira ve ark., 2011). FOS'in kalori değeri 1.5 kcal/g'dır (Ishwarya ve Prabhasankar, 2013).

FOS, muz, sarımsak, soğan, domates, buğday, kuşkonmaz, enginar, pırasa, bal, çavdar, esmer şeker, arpa, marul, hindiba, yer elması, dulavratotu, pancar, elma, çiçek soğanı gibi bitkilerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Oliveira ve ark., 2011; Rolim, 2015). Bunların yanı sıra şeker otu bitkisi (*Stevia rebaudiana* Bertoni) atıklarından da elde edildiği bildirilmektedir (Lopes ve ark., 2017)

Günlük FOS alım miktarı kuzey Amerika'da 2-4 g iken Avrupa 'da bu oran 2-12 g arasındadır (Gibson ve ark., 1994). FOS yasal olarak gıda katkısı değil gıda bileşeni olarak ifade edilmektedir. FOS'in sindirimi laktoz intoleransı olan insanlarda gaz oluşumuna neden olmaktadır. Fakat bu semptom tüketim miktarı ile doğru orantılıdır (Haully ve Moscatto, 2002). Bağırsak mikroflorasının dengelenmesi için gerekli FOS miktarı günlük 4-10 g'dır (Manning ve Gibson, 2004; Costabile ve ark., 2010). Erkeklerde 44 g, kadınlarda ise 49 g FOS tüketimi ishali tetiklemektedir (Spiegel ve ark., 1994; Borges, 1997). Her ne kadar günlük yeterli dozda FOS alımı bağırsak florasındaki bifidobakterilerin büyüme ve gelişmesini iyileştirse de, başlangıçtaki konakçı bifidobakteri sayısı FOS etkinliği konusunda önem arz etmektedir (Kolida ve Gibson, 2007).

FOS'in, bağırsaklarda seçici olarak bifidobakteri türlerinin gelişimine katkıda bulunduğu birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmada ortaya konulmuştur. FOS, kolay bir biçimde proksimal bağırsakta konakçı flora tarafından parçalanarak çok miktarda kısa zincirli yağ asitlerine dönüşürler (Manning ve Gibson, 2004; Tuohy ve ark., 2005). Günlük yeterli miktarda FOS tüketimi vücuttaki kalsiyum (Roberfroid, 2002) ve magnezyum (Bornet ve ark., 2002) absorpsiyonunu artırmaktadır.

1.3.2. Galaktooligosakkaritler (GOS) veya Transgalaktooligosakkaritler (TOS)

Dünya genelinde en çok üretilen oligosakkaritlerden biri olan GOS, sığır ve anne sütünde doğal olarak bulunmanın yanı sıra yapay olarak da sentezlenir. (Cho ve Finocchiaro, 2009). GOS, galaktoz moleküllerinin laktoza bağlanması sonucu oluşur. 3 ile 6 adet sakkaritin 2-5 arası galaktoz ünitesi ile çoğunlukla β (1-4;1-6) bağları ile bağlanması sonucu meydana gelir (Sako ve ark., 1999). Bitkisel kaynaklardan (baklagiller, soya fasulyesi) ekstraksiyon yöntemi ile izole edilirler (Bouhnik ve ark., 1997). Transgalaktosilasyon reaksiyonu olarak tanımlanan bir biyokimyasal yolla oluşurlar (Gosling ve ark., 2010). Bu reaksiyonda hidrolize edici ve yoğunlaştırıcı enzim olarak β -galaktosidaz rol alır (Prensil ve ark., 1987). Ticari olarak üretilen GOS ile anne sütündeki GOS arasında yüksek miktarda galaktoz içermesi ve indirgeyici ucun laktoz olması gibi birçok benzerlik vardır (Cho ve Finocchiaro, 2009).

GOS, laktoz intoleransı olan insanlar için laktoz miktarını azaltmanın yanı sıra süt ürünlerinin tatlılığını da artırır (Gosling ve ark., 2010). Bütün prebiyotikler gibi GOS de sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşır ve oradaki faydalı mikroorganizmaların seçimli olarak çoğalması ve gelişmesine yardımcı olur, patojenik

ve pütrifaktif organizmaların ise gelişmesine engel olur (Modler, 1994).

GOS'in laktozdan elde edilmesi, kaynağı, enzim konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve substrat konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenmektedir (Mahoney, 1998; Rustom ve ark., 1998). Ne kadar yüksek miktarda laktoz olursa, GOS üretimi de o denli fazla olur (Leiva ve Guzman, 1995; Roy ve ark., 2002).

Mikrobiyal floranın gelişimine katkı sağlamak için tavsiye edilen günlük tüketim miktarı 2-3 g'dır. Diyabet ve yüksek kolesterol rahatsızlığı olan insanlar için bu miktar 8-20 g'dır (Carabin ve Flamm, 1999). GOS'lerin toksik etkileri yoktur, olumsuz tek etkisi vücut ağırlığına oranla aşırı tüketimde (25-30 g/70 kg) ishal yapıcı olmasıdır (Sako ve ark., 1999).

GOS takviyelerinin farelerde fekal β -glukuronidaz aktivitesini azalttığı ve laktobasil sayısını artırdığı ortaya konmuştur (Andersson ve ark., 2001). GOS ve polidekstroz karışımı prebiyotiklerin farelerde demir emilimini artırdığı ortaya konmuştur (Rolim, 2015). Yaşlılarda günlük 5 g GOS alımının bağırsak florası ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu ortaya konmuştur (Vulevic ve ark., 2008).

GOS, laktozun enzimatik reaksiyonu ile *Lactobacillus reuteri*, *Aspergillus oryzae*, *Kluveromyces lactis* tarafından üretilir. Bu tepkime sürekli ya da kesikli sisemlerde ultrafiltrasyon seramik membranı ile membran reaktörlerinde gerçekleşir (Pocedicova ve ark., 2010).

GOS'in insan bağırsağındaki genotoksik enzimler üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; β -glukosidaz, β -glukuronidaz ve arilsülfat üzerine güçlü bir inhibe edici etki gösterdiği ortaya konmuştur (McBain and Macfarlane, 2001).

GOS, *in vitro* çalışmalarda laktobasil ve bifidobakterilerin gelişmelerine yardımcı olurken, *Clostridium histolyticum* ve *C. difficile* 'nin gelişimini engellemektedir (Palframan ve ark., 2002; Hopkins ve Macfarlane, 2003; Tuohy ve ark., 2005; Vulevic ve ark., 2008).

GOS'in gıda olarak ve bebek beslenmesi başta olmak üzere, çeşitli ürünlerde güvenli bir biçimde yıllardır kullanılmaktadır. GOS içeren ürünlerin ilk olarak üretimi 1980'lerin sonunda Japonya da başlamıştır. Avrupa da ise GOS içeren ilk ürün 1997 'de Hollanda da fermente süt ürünü olarak kayda geçmiştir. Gün geçtikçe de bu bileşenin yüksek çözünürlük kapasitesi ve stabil yapısı (pastörizasyon, sterilizasyon ve asidik ortamlarda) nedeniyle gıdalarda kullanıma potansiyeli artmaktadır. GOS çoğunlukla yoğurt ve nektarlar gibi asidik özellik gösteren gıdalarda yüksek stabilitesi için tercih edilmektedir. Günümüzde GOS, süt ürünlerinden fırıncılık ürünlerine kahvaltılık gevreklerden nektarlara ve atıştırmalık krakerlere kadar çok geniş bir alanda kullanılmaktadır (Cho ve Finocchiaro, 2009).

1.3.3. Ksilooligosakkaritler (KSO)

Ksilooligosakkaritler, ksilanın enzimatik hidrolizi ile elde edilmektedir (Moure ve ark., 2006). Ksilooligosakkaritler, ksilobiyoz, ksilotrioz ve ksilio-tetraoz, ksiloz moleküllerinden meydana gelmektedir (Macfarlane ve Cummings, 1999). KOS, hücre içi ve insan çalışmalarında bifidobakteriler tarafından parçalanır ve bifidojenik etki gösterirler (Tuohy ve ark., 2005). KSO, bambu dalları, meyve, sebze, süt, bal ve buğday kepeğinde bol miktarda bulunur (Vazquez ve ark., 2000).

In vitro çalışmalar göstermiştir ki *Bifidobacterium* spp. ve *B. adolescentis* KSO'un aktif tüketicileridir ve KSO bağırsakta *Bifidobacterium bifidum*'un çoğalmasına yardımcı olurken *Staphylococcus*, *Escherichia coli* ve *Clostridium* türleri bu bileşiği tüketememektedir (Fujikawa ve ark., 1991; Suwa ve ark., 1999).

L. fermentum dahil laktobasillerin bir çoğu KSO kullanılmaktadır. Bakterisidler de KSO 'i kullanılmaktadır. Fakat bu miktar glukoz ile kıyaslandığında çok küçük bir miktara karşılık gelmektedir (Fujikawa ve ark., 1991). Bifidobakteri türlerine katkı sağlama konusunda karbon kaynakları kıyaslandığı vakit, bu bakteri türleri KSO, rafinoz ve FOS 'i heksozlara tercih etmektedir (Jaskari ve ark., 1998).

Yaşlılarda bağırsak florası, gastrointestinal fonksiyonlar ve besinsel parametreler üzerine KSO'in etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, günlük 4 g KSO tüketiminin yaşlı sağlığına yararlı olduğu ve herhangi bir olumsuz etki göstermediği ortaya konmuştur (Chung ve ark., 2007). Ayrıca yapılan bir diğer çalışmada KSO, ksilan ve ticari KSO ile hazırlanan bir fermente ürünün insan bağırsak simülöründe hareketleri incelenmiştir. Kıyaslama için de fermente FOS kullanılmış ve çalışma sonucunda bifidobakteri türlerinin KSO bileşiklerini FOS bileşiklerine tercih ettikleri gözlemlenmiştir (Makelainen ve ark., 2009).

1.3.4. İzomaltooligosakkaritler (IMO)

İzomaltooligosakkaritler, nişastadan enzimatik reaksiyonla üretilen α -(1 $\rightarrow$ 6) glikozidik bağla birbirine bağlanmış ve Bifidobakteri türleri üzerine prebiyotik etki gösteren glukoz izomerleridir (Kolida ve ark., 2007; Cho ve ark., 2014). IMO'ler pirinç, mısır, soya, miso ve sake gibi doğal kaynaklardan elde edilebilir fakat bu kaynaklardan ekstraksiyonu ekonomik değildir. Kimyasal senteze nazaran daha çok tercih edilen enzimatik reaksiyon, substrat olarak nişastanın; glikosiltransferaz ve glikosidaz enzimi kullanarak parçalanması ile gerçekleştirilmektedir. Klasik olarak, IMO 'ler α amilaz, β amilaz ve pullulanaz yardımı ile nişastanın hidrolizi ile elde edilir (Ojha ve ark., 2015). İzomaltoz, izomaltotrioz ve panoz insan bağırsağındaki mikrobiyal flora üzerine seçici olarak olumlu etki göstermektedir. Fermente olduktan sonra ortamda laktik asit ve asetat konsantrasyonunu artırmaktadır (Tuohy ve ark., 2005). IMO farklı metotlar ile maltoz, nişasta gibi karbonhidratlardan ekstraksiyon, asit ya da enzim ile hidroliz gibi farklı metotlar ile üretilir. IMO 2-6 PD 'ne sahiptir. IMO'nun asit çözeltilerine karşı dayanıklı olması bu bileşiği diğer oligosakkaritlerden ayırır (Özyurt ve Ötleş, 2014).

1.3.5. Soyaoligosakkaritleri (SOS)

SOS, soya fasulyesinden elde edilen, FAO tarafından GRAS olarak nitelendirilen potansiyel prebiyotik materyallerdir (Zhang ve ark., 2015). SOS, çoğunlukla rafinoz, stakiyoz ve sukrozdan oluşur (Fei ve ark., 2014). Her biri bağırsağa sindirilmeden ulaşarak bifidojenik etki gösterirler. SOS tüketiminden sonra insanlarda fekal bifidobakteri ve laktobasil türlerini artırdığı *in vitro* çalışmalar ile ortaya konmuştur. Bunlara ilave olarak *Bacteroides* ve *Clostridium* türlerini inhibe ettiği ve potansiyel toksik mikrobiyal metabolitleri de azalttığı bildirilmiştir (Tuohy ve ark., 2005).

1.3.6. Laktosukroz

Laktosukroz, (laktosilfruktosit, O- β -D-Galaktopiranosil - (1 $\rightarrow$ 4)-O- α -D-glikopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- β -fruktofuranosid) düşük kalorili gıda eldesi gibi bir çok fonksiyonel özellikleri olan bir tatlandırıcıdır (Kawase ve ark., 2001). Laktosukrozun endüstriyel üretim prosesi *Arthrobacter* sp. 'den β -fruktofuranosidaz yardımı

ile sukroz ve laktozdan enzimatik olarak sentezlenmesi şeklindedir (Pilgrim ve ark., 2006).

Sukroz + Laktoz $\rightleftharpoons$ Laktosukroz + Glukoz

Laktosukroz, hammadde olarak laktoz ve sukrozun kullanılması ile elde edilir (Kawase ve ark., 2001). Laktosukroz, laktuloz ya da GOS gibi laktoz bazlı prebiyotikler ile kıyaslandığında daha yüksek laksatif etki göstermektedir. Laktosukroz tüketen insanların fekal mikrobiyotalarında bifidobakteri türlerinin iyi derecede arttığı görülmüştür (Silverio ve ark., 2015).

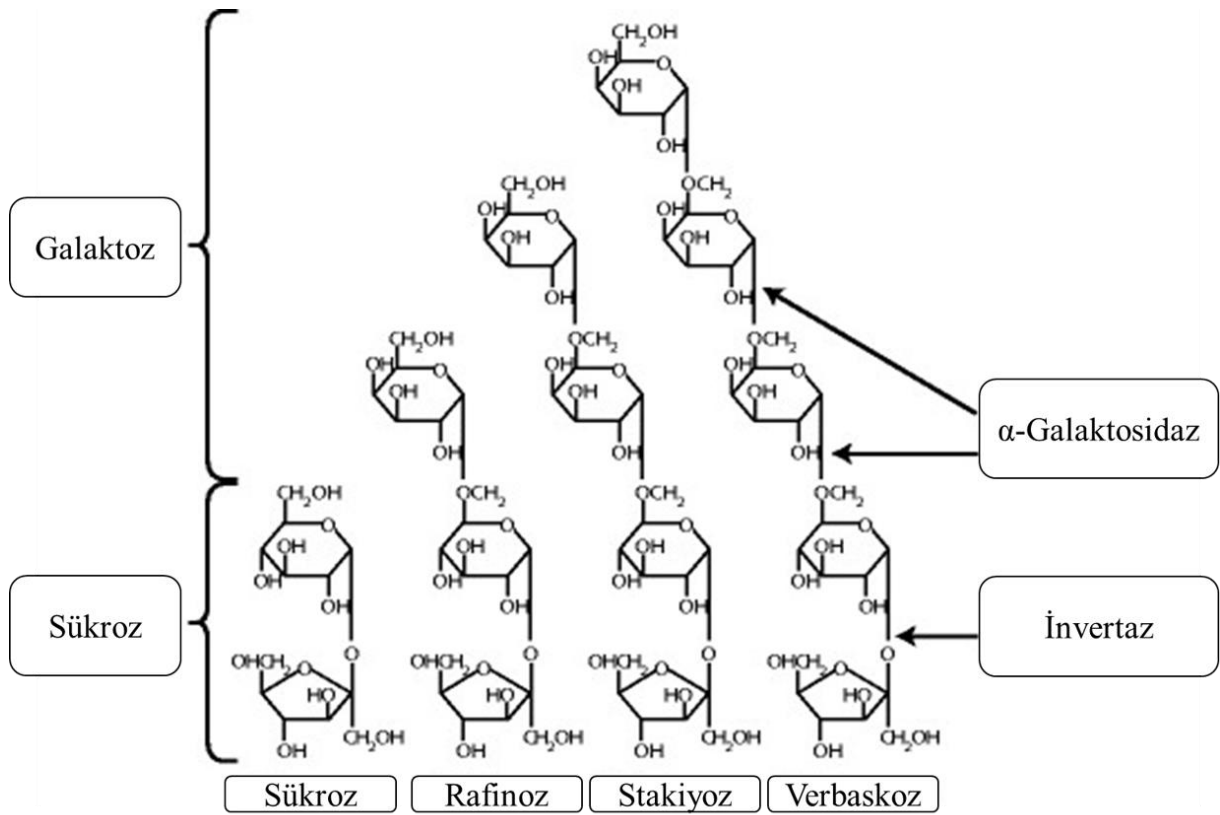
1.3.7. Laktulozdan Türetilmiş Oligosakkaritler

Bunlardan biri, D-fruktoz ve β -D-galaktozun β -1,3-glikozidik bağ ile bağlanması sonucu elde edilen 3-O- β -D-galaktopiranozil-D-fruktoz; diğeri ise yine D-fruktoz ve β -D-galaktozun β -1,3-glikozidik bağlanması ile elde edilen 1-O- β -D-

galaktopiranozil-D-fruktozdur. Bu tepkimeler enzimatik transgalaktosilasyon ile gerçekleştirilmektedir. Elde edilen oligosakkaritlerin prebiyotik aktivitesinin laktulozdan daha iyi olduğu ifade edilmektedir (Zhu ve ark., 2016).

1.3.8. Rafinoz Oligosakkaritleri (ROS)

Rafinoz oligosakkaritleri (rafinoz, stakiyoz, verbaskoz) (Şekil 2), çözünür, yapısal ve indirgeyici olmayan, tohum desikasyon toleransı, tohum çimlenmesi ve stres toleransı gibi bitkilerin fizyolojik proseslerinde ihtiyaç duyulan bileşiklerdir (Gangola ve ark., 2016). İyi bifidus faktörleri olarak adlandırılırlar ve antikanserojen, antioksidan ve don önleyici ajanlar olarak bilinirler. Rafinoz doğadan elde edilmesi kolay bir bileşiktir, fakat stakiyoz ve verbaskozun istenilen saflıkta eldesi kimyasal yollarla yapılmaktadır (Zhao ve ark., 2013).



Şekil 2. Rafinoz Oligosakkaritleri (Bewley ve ark., 1994)

ROS'i, doğrudan bitkilerden su, sıvı metanol ya da etanol çözümleri ile ekstrakte edilebilir. ROS, baklagiller, mercimek, bezelye, fasulye, nohut, ebegümeci ve hardal tohumları gibi bitkilerde bulunmaktadır (Johansen ve ark., 1996).

1.3.9. Gentiooligosakkaritler (GIOS)

GIOS, genellikle serbest halde bulunan moleküller değildir. Birkaç glukoz tortusunun β (1-6) glikozidik bağlarla bağlanması sonucu meydana gelir. Asidik ya da enzimatik olarak nişastanın

hidrolizi ile ya da β -glikosidaz enzimi ile katalizlenen glukoz şurubunun transglikosilasyonu ile üretilebilir (Crittenden ve Playne, 1996).

PD 2-3'tür. GIOS'ler liken polisakkaridi pustulanın kısmi hidrolizi ile elde edilir. Fakat bu işlem ile elde edilen GIOS'in PD 3'ten küçük olduğu için çok istenilen bir ürün değildir. Glikosilasyon ile kimyasal olarak da sentezlenmektedir. GIOS sentezi için glikosiltransferaz yerine daha ucuz olan glikosidaz kullanılmaktadır. Glikosidaz enzimi genellikle glikozidik bağları hidrolize etmektedir (Fujimoto ve ark., 2009).

1.3.10. Pektik Oligosakkaritler (POS)

POS, önemli bir prebiyotik oligosakkarittir (Manderson ve ark., 2005). POS, diğer oligosakkaritler gibi rekabetçi antimikrobiyal ajan olarak faaliyet göstermektedir (Li ve ark., 2013). POS, pektince zengin tarımsal atıkların; kısmi enzimatik hidrolizi, asit hidrolizi ya da hidrotermal prosesi kullanılarak depolimerize edilmesi ile elde edilmektedir (Gómez ve ark., 2014). Bununla birlikte POS'ların prebiyotik ve antimikrobiyal aktivitesi henüz yeterince aydınlatılabilmemiş değildir (Li ve ark., 2016). Kapoor ve Dharmesh (2017), ham domatesten elde ettikleri pektik oligosakkaritlerin antikanserojen etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu etkinin ise pektik oligosakkaritlerin yapısında çokca bulunan galaktoz ve ramnozdan ileri geldiğini bildirmişlerdir.

1.3.11. Arabinoksilooligosakkaritler (AKSO)

Arabinoksilooligosakkaritler (AKSO), tahılların hücre duvarlarındaki temel hemiselüloz polisakkarit olan arabinoksilanın yan ürünüdür. Ana zincirinde β -1,4-ksilopiranosil üniteleri, yan zincirlerinde ise 2. veya 3. O'ne bağlı arabinosefuranosil ünitelerinden meydana gelir. AKSO, yapısındaki arabinoz ksiloz oranına göre değişik PD değerlerine sahiptir.

Enzimatik ya da kimyasal ekstraksiyon ile arabinoksilandan elde edilebilir. Ekstraksiyonu sonrası ayarlı etanol ile çöktürme ve sonrasında ultrafiltrasyon ile saflığı artırılır (Cloetens ve ark., 2008). Buğday kepeği zengin bir AKSO kaynağıdır (Grootaert ve ark., 2007; Eeckhaut ve ark., 2008).

Hayvanlar üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalar göstermiştir ki, AKSO, bifidojenik etki göstermektedir. Bağırsak mikroflorasındaki mikroorganizmalara seçimli olarak katkıda bulunmaktadır. İnsan çalışmaları ile ilgili yeterli çalışma mevcut değildir (Cloetens ve ark., 2008).

1.3.12. Mannooligosakkaritler (MOS)

Patojen mikroorganizmaların engellenmesi ve canlılığın immün sisteminin düzenlenmesi için yem katkısı olarak kullanılan Manno oligosakkaritler (MOS), düz zincirli mannoz şekerleridir. Hayvan yemi katkısı olarak kullanılan MOS, *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayaların hücre duvarından elde edilir. Mayalardan eldesinin yanı sıra Hindistan cevizi atıkları da zengin bir MOS kaynağıdır. Mayalardan elde edilen MOS α -1,6 glikozidik bağ içerirken, Hindistan cevizinden elde edilenlerde β -1,4 bağlanmalar görülmektedir (Rungrassamee ve ark., 2014).

Enzimatik MOS eldesinde genellikle, mannanlar ve çoğunlukla mannoz içeren heteropolisakkaritler arasındaki (1,4)- β -d-mannosidik bağları hidrolize eden β -1,4 mannanaz enzimi kullanılmaktadır (Blibech ve ark., 2011).

Önceki yapılan çalışmalar MOS'lerin özellikle bifidobakteri ve laktobasil türleri gibi faydalı bakterilerin aktivitesini artırıcı özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca MOS intestinal yağ alımını inhibe ederek yağlanmayı önlemektedir. Çalışmalar, yetişkin bir insanın günlük minimum 3 g MOS alımının yağ oluşumunu azaltarak yağlanmayı önleyeceğini ortaya koymuştur (Jian ve ark., 2013).

1.3.13. Neoagaro-oligosakkaritler (NAOS)

Neoagaro-oligosakkaritler (NAOS), agarozun enzimatik hidrolizi ile elde edilirler, gastrointestinal bölgedeki enzimlere karşı oldukça dirençlidirler ve laktobasiller ve bifidobakterilerin gelişmesini kayda değer bir şekilde desteklerler (Hu ve ark., 2006).

Agaroz, bazı kırmızı alglerin hücre duvarlarında bulunan ve 3-O bağlı β -D-galaktopiranoz ve 4-O bağlı 3,6-anhidro- α -L-galaktopiranoz artıklarının bir araya gelerek düz zincir halinde dizilmesi ile oluşan denizcil bir polisakkarittir (Hu ve ark., 2006).

α -Agaraz agarozun α -(1 $\rightarrow$ 3) bağlarını hidrolize ederek agaro-oligosakkaritleri oluştururken, β -agaraz agarozun β -(1 $\rightarrow$ 4) bağlarını hidrolize ederek NAOS 'i oluştururlar. NAOS, konakçı faydalı mikroorganizmaların gelişmesini tetiklemesinin yanı sıra nişastanın degradasyonunu yavaşlatır. Ayrıca ilave edildiği gıdanın kalorisini düşürür. Yakın zamanda NAOS 'in hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak prebiyotik etki gösterdiği ortaya konmuştur (Li ve ark., 2007).

1.3.14. Kitosan-Oligosakkaritleri (KOS)

Kitosan N-asetilglikozaminhidrolaz ya da kitosanaz kitosanın β -1,4 glikozidik bağlarının hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Bu enzimler Gram (+) ve Gram (-) bakteriler dahil olmak üzere maya ve funguslar gibi çok çeşitli mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Kitosanaz enziminin en önemli faaliyeti kitosandan kitosan-oligosakkaritlerinin eldesidir. Kitosan, homojen ya da heterojen deasetilasyon yöntemi ile kitinden çeşitli derecelerde polimerizasyona ve molekül büyüklüğüne sahip polisakkarit polimerleri olarak elde edilebilir (Pechsrichuang ve ark., 2013).

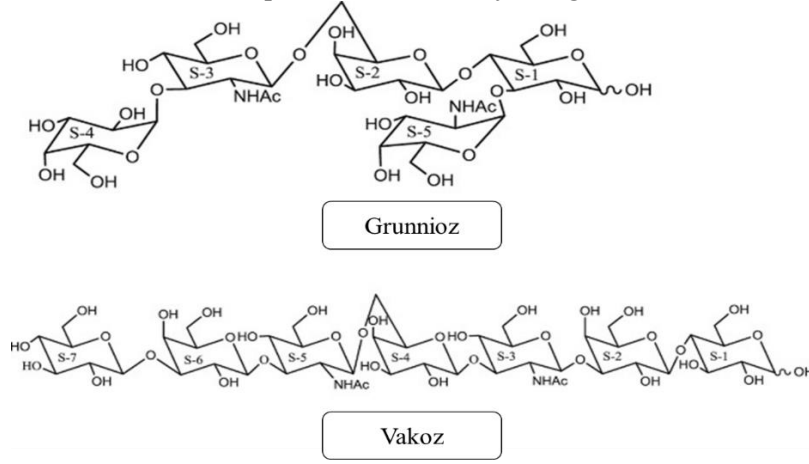
Kitosan ya da kito oligosakkaritlerin PD 2 ile 10 arasında değişmektedir. Kitin asetilglikozaminlerin β -(1 $\rightarrow$ 4) bağlanması sonucu meydana gelir. Endüstriyel olarak bu bileşiğin eldesi kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarından yapılmaktadır. Kitinin deasetilleşmiş formu olan kitosanın çözünürlüğü daha fazladır ve enzimatik olarak KOS'e dönüşmektedir. Kitosan ve KOS üretimi çok maliyetli değildir. Bütün prebiyotik oligosakkaritler gibi KOS de bifidojenik etki göstermenin yanı sıra *E. coli* gibi enteropatojenik bakterilerin çoğalma ve gelişmesini de engellemektedir (Black ve ark., 2014).

1.3.15. Fosforil Oligosakkaritler

Fosforil oligosakkaritler (FO), ilk defa Kamasaka ve ark. (1995) tarafından patates nişastasından ekstrakte edilerek izole edilmiştir. Diğer oligosakkaritlerin faydalarına ek olarak, FO'lar alkalik koşullarda çözünür kalsiyum kompleksleri oluşturarak kalsiyumun emilimini artırarak biyoyararlanımı artırır. Ayrıca çok yüksek konsantrasyonlarda bile acı tat oluşturma durumları söz konusu değildir (Liu ve ark., 2017).

1.3.16. Grunnioz ve Vakoz

Yak sütü, geleneksel tibet tıbbında çok önemli bir yere sahip; protein, laktoz, yağ, vitamin ve minerallerce zengin bir besindir. Yaktan elde edilen biyoaktif bileşenlerin, antihipertansif ve immünomodülatör özelliklere sahip olduğu ifade edilmektedir (Jiang ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2013). Yak sütünden izole edilen bu bileşiklerin isimlendirmesi ve kimyasal yapısının (Şekil 3) belirlenmesi Singh ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. Grunnioz ve vakozun kimyasal yapısı (Singh ve ark., 2016)

2. Sonuç

Prebiyotikler, sindirim enzimleri tarafından sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşarak, oradaki konakçı mikroorganizmaların seçimli olarak çoğalma ve gelişmesine katkı sağlamaktadır. Oligosakkaritler, prebiyotiklerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Prebiyotik özelliklerinin yanı sıra oligosakkaritler gıdalara birçok açıdan katkı sağlamaktadır. Sindirilemedikleri için enerji değerleri yok denecek kadar azdır. Bütün prebiyotikler gibi oligosakkaritler de insan sağlığı için vazgeçilmez bileşenlerdendir. Son 20 yılda yapılan klinik ve diyetetik çalışmalarda büyük bir çoğunluğunu oligosakkaritlerin oluşturduğu prebiyotiklerin insan sağlığına doğrudan ve dolaylı olarak katkı sağladığı ortaya konmuştur. Bu hususta hızlı bir şekilde gelişen fonksiyonel gıda sektörü için bu oligosakkaritlerin tanımlanması ve elde edilme metodlarının geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu çalışma ile bu yönde şu ana kadar yapılmış olan çalışmalara değinilmiş ve gelecek için neler yapılabileceği konusunda fikir oluşturmaya katkı sağlanmıştır.

Kaynaklar

- Aachary, A. A., & Prapulla, S. G. (2009). Value addition to spent osmotic sugar solution (SOS) by enzymatic conversion to fructooligosaccharides (FOS), a low calorie prebiotic. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 284-288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.013>.
- Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1542-1553.
- Andersson, H., Asp, N. G., Bruce, Å., Roos, S., Wadström, T., & Wold, A. E. (2001). Health effects of probiotics and prebiotics a literature review on human studies. *Food & Nutrition Research*, 45, 58-75.
- Balthazar, C. F., Silva, H. L. A., Vieira, A. H., Neto, R. P. C., Cappato, L. P., Coimbra, P. T., Moraes, J., Andrade, M. M., Calado, V. M. A., Granato, D., Freitas, M. Q., Tavares, M. I. B., Raices, R. S. L., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International*, 91, 38-46.
- Bewley, J. D., & Black, M. (1994). Seeds. In *Seeds* (pp. 1-33). Springer Us.
- Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(5), 303-310.
- Black, B. A., Yan, Y., Galle, S., Hu, Y., Curtis, J. M., & Gänzle, M. G. (2014). Characterization of novel galactosylated chitin-oligosaccharides and chitosan-oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 39(2), 330-335.
- Blibech, M., Chaari, F., Bhiri, F., Dammak, I., Ghorbel, R. E., & Chaabouni, S. E. (2011). Production of manno-oligosaccharides from locust bean gum using immobilized *Penicillium occitanis* mannanase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 73(1), 111-115.
- Borges, V. C. (1997). Oligassacarideos x Fibras Alimentares. *Revista Brasileira de Nutricao Clinica*, 12(2), 161-164.
- Bornet, F. R. J., Brouns, F., Tashiro, Y., & Duveiller, V. (2002). Nutritional aspect of short-chain fructooligosaccharides: Natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and Liver Disease*, 34, S111-S120.
- Bouhnik, Y., Flourie, B., D'Agay-Abensour, L., Pochart, P., Gramet, G., Durand, M., & Rambaud, J.C. (1997). Administration of transgalacto-oligosaccharides increases faecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *Journal of Nutrition*, 127, 444-448.
- Brannon, C. (2003). Prebiotics: feeding friendly bacteria. *Today's Dietitian*, 14, 123-128.
- Carabin, I. G., & Flamm, W. G. (1999). Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30(3), 268-282.
- Carvalho, E. A., dos Santos Góes, L. M., Uetanabaro, A. P. T., da Silva, E. G. P., Rodrigues, L. B., Pirovani, C. P., & da Costa, A. M. (2017). Thermoresistant xylanases from *Trichoderma stromaticum*: Application in bread making and manufacturing xylo-oligosaccharides. *Food Chemistry*, 221, 1499-1506.
- Cho, S. K., Eom, H. J., Moon, J. S., Lim, S. B., Kim, Y. K., Lee, K. W., & Han, N. S. (2014). An improved process of isomaltooligosaccharide production in kimchi involving the addition of a *Leuconostoc* starter and sugars. *International journal of food microbiology*, 170, 61-64.
- Cho, S. S., & Finocchiaro, T. (Eds.). (2009). *Handbook of prebiotics and probiotics ingredients: health benefits and food applications*. CRC Press.
- Chung, Y. C., Hsu, C. K., Ko, C. Y., & Chan, Y. C. (2007). Dietary intake of xylooligosaccharides improves the intestinal

- microbiota, fecal moisture, and pH value in the elderly. *Nutrition Research*, 27(12), 756-761.
- Cloetens, L., Swennen, K., De Preter, V., Broekaert, W. F., Courtin, C. M., Delcour, J. A., Rutgeerts, P., & Verbeke, K. (2008). Effect of arabinoxylo-oligosaccharides on proximal gastrointestinal motility and digestion in healthy volunteers. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 3(5), e220-e225.
- Cmelik, R., & Chmelik, J. (2010). Structural analysis and differentiation of reducing and nonreducing neutral model starch oligosaccharides by negative-ion electrospray ionization ion-trap mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 291(1), 33-40.
- Costabile, A., Kolida, S., Klinder, A., Gietl, E., Bäuerlein, M., Froberg, C., Landschutze, V., & Gibson, G. R. (2010). A double-blind, placebo-controlled, cross-over study to establish the bifidogenic effect of a very-long-chain inulin extracted from globe artichoke (*Cynara scolymus*) in healthy human subjects. *British journal of nutrition*, 104(07), 1007-1017.
- Crittenden, R. G., & Playne, M. J. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 353-361.
- Cummings, J. H., Macfarlane, G. T., & Englyst, H. N. (2001). Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 415S-420S.
- Dias, L. G., Veloso, A.C.A., Correia, D. M., Rocha, O., Torres, D., Rocha, I., Rodrigues, L.R., & Peres, A. M. (2009). UV spectrophotometry method for the monitoring of galacto-oligosaccharides production. *Food Chemistry*, 113(1), 246-252.
- Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Dewulf, J., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., Courtin, C. M., Delcour, J. A., & Broekaert, W. F. (2008). Arabinoxylooligosaccharides from wheat bran inhibit *Salmonella* colonization in broiler chickens. *Poultry Science*, 87, 2329-2334.
- Fei, B. B., Ling, L., Hua, C., & Ren, S. Y. (2014). Effects of soybean oligosaccharides on antioxidant enzyme activities and insulin resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus. *Food chemistry*, 158, 429-432.
- Freitas, D. D. G. C., & Jackix, M. D. N. H. (2004). Caracterização físico-química e aceitação sensorial de bebida funcional adicionada de frutoligosacarídeo e fibra solúvel. *Bol. Centro Pesqui. Process. Aliment*, 22(2), 355-374.
- Fujikawa, S., Okazaki, M., & Matsumoto, N. (1991). Effect of xylooligosaccharide on growth of intestinal bacteria and putrefaction products. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* 44 (1), 37-40.
- Fujimoto, Y., Hattori, T., Uno, S., Murata, T., & Usui, T. (2009). Enzymatic synthesis of gentiooligosaccharides by transglycosylation with β -glycosidases from *Penicillium multicolor*. *Carbohydrate research*, 344(8), 972-978.
- Gangola, M. P., Jaiswal, S., Kannan, U., Gaur, P. M., Bâga, M., & Chibbar, R. N. (2016). Galactinol synthase enzyme activity influences raffinose family oligosaccharides (RFO) accumulation in developing chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Phytochemistry*, 125, 88-98.
- Gibson, G. R. (2004). Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2), 25-31.
- Gibson, G. R., Willis, C. L., & Loo, J. V. (1994). Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria-implications for health. *International Sugar Journal (United Kingdom)*.
- Gómez, B., Gullón, B., Remoroza, C., Schols, H. A., Parajó, J. C., & Alonso, J. L. (2014). Purification, characterization, and prebiotic properties of pectic oligosaccharides from orange peel wastes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(40), 9769-9782.
- Gosling, A., Stevens, G.W., Barber, A.R., Kentish, S.E., Gras, S.L., (2010). Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. *Food Chemistry* 121: 307-318.
- Grootaert, C., Delcour, J. A., Courtin, C. M., Broekaert, W. F., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. (2007). Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 64-71.
- Gulewicz, P., Ciesiolka, D., Frias, J., Vidal-Valverde, C., Frejnagel, S., Trojanowska, K., & Gulewicz, K. (2003). Simple method of isolation and purification of α -galactosides from legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3120-3123.
- Haully, M. C. O., & Moscatto, J. A. (2002). Inulin and oligofructosis: a review about functional properties, prebiotic effects and importance for food industry. *Semina: Ciencias Exatas e Tecnológicas*, 23(1), 105-118.
- Hopkins, M. J., & Macfarlane, G. T. (2003). Nondigestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against *Clostridium difficile* in vitro. *Applied and environmental microbiology*, 69(4), 1920-1927.
- Hu, B., Gong, Q., Wang, Y., Ma, Y., Li, J., & Yu, W. (2006). Prebiotic effects of neoagaro-oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agarose. *Anaerobe*, 12(5), 260-266.
- Huanhuan, C., Xia, Z., Xiaohong, L., & Guangli, Y. (2015). Application of Electrospray Tandem Mass Spectrometry in Sequence Analysis of Oligosaccharides. *Chemical Journal Of Chinese Universities-Chinese*, 36(1), 1-8.
- Ishwarya, S. P., & Prabhasankar, P. (2013). Fructooligosaccharide-Retention during baking and its influence on biscuit quality. *Food Bioscience*, 4, 68-80.
- Jaskari, J., Kontula, P., Siitonen, A., Jousimies-Somer, H., Mattila-Sandholm, T., & Poutanen, K. (1998). Oat β -glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(2), 175-181.
- Jian, H. L., Zhu, L. W., Zhang, W. M., Sun, D. F., & Jiang, J. X. (2013). Enzymatic production and characterization of manno-oligosaccharides from *Gleditsia sinensis* galactomannan gum. *International journal of biological macromolecules*, 55, 282-288.
- Jiang, J., Chen, S., Ren, F., Luo, Z., & Zeng, S. S. (2007). Yak milk casein as a functional ingredient: preparation and identification of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides. *Journal of Dairy Research*, 74(01), 18-25.
- Johansen, H. N., Glitso, V., & Knudsen, K. E. B. (1996). Influence of extraction solvent and temperature on the quantitative determination of oligosaccharides from plant materials by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1470-1474.
- Kamasaka, H., Uchida, M., Kusaka, K., Yoshikawa, K., Yamamoto, K., Okada, S., & Ichikawa, T. (1995). Inhibitory effect of phosphorylated oligosaccharides prepared from potato starch on the formation of calcium phosphate. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 59(8), 1412-1416.
- Kapoor, S., & Dharmesh, S. M. (2017). Pectic oligosaccharide from tomato exhibiting anticancer potential on a gastric cancer cell line: Structure-function relationship. *Carbohydrate Polymers*, 160, 52-61.

- Kawase, M., Pilgrim, A., Araki, T., & Hashimoto, K. (2001). Lactosucrose production using a simulated moving bed reactor. *Chemical Engineering Science*, 56, 453–458.
- Kolida, S., & Gibson, G. R. (2007). Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *The Journal of nutrition*, 137(11), 2503S-2506S.
- Kolida, S., Meyer, D., & Gibson, G. R. (2007). A double-blind placebo-controlled study to establish the bifidogenic dose of inulin in healthy humans. *European journal of clinical nutrition*, 61(10), 1189-1195.
- Kumar, S., Teotia, U. V. S., & Aswal, A. P. S. (2013). Antihypertensive property of yak milk caseinates hydrolyzed with different proteases. *Int. J. Livest. Res*, 3(2), 130-134.
- Kunová, G., Rada, V., Lisova, I., Ročková, S., & Vlková, E. (2011). In vitro fermentability of prebiotic oligosaccharides by lactobacilli. *Czech J Food Sci*, 29(1), S49-S54.
- Leiva, M. H. L., & Guzman, M. (1995). Formation of oligosaccharides during enzymic hydrolysis of milk whey permeates. *Process Biochemistry*, 30(8), 757-762.
- Li, J., Han, F., Lu, X., Fu, X., Ma, C., Chu, Y., & Yu, W. (2007). A simple method of preparing diverse neoagaro-oligosaccharides with β -agarase. *Carbohydrate research*, 342(8), 1030-1033.
- Li, P. J., Xia, J. L., Nie, Z. Y., & Shan, Y. (2016). Pectic oligosaccharides hydrolyzed from orange peel by fungal multi-enzyme complexes and their prebiotic and antibacterial potentials. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 203-210.
- Li, S., Li, T., Zhu, R., Wang, N., Song, Y., Wang, S., & Guo, M. (2013). Antibacterial action of haw pectic oligosaccharides. *International Journal of Food Properties*, 16(3), 706-712.
- Liu, J., Li, H., Wu, J., Xie, F., Zhang, J., & Wang, Z. (2017). Determination of phosphoryl-oligosaccharides obtained from *Canna edulis* Ker starch. *Starch-Stärke*, 69(1-2).
- Lopes, S. M. S., Krausová, G., Carneiro, J. W. P., Gonçalves, J. E., Gonçalves, R. A. C., & de Oliveira, A. J. B. (2017). A new natural source for obtainment of inulin and fructo-oligosaccharides from industrial waste of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Food Chemistry*. (225), 15 June 2017, Pages 154–161.
- Macfarlane, G. T., & Cummings, J. H. (1999). Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *Western journal of medicine*, 171(3), 187.
- Mahoney, R. R. (1998). Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. *Food chemistry*, 63(2), 147-154.
- Makelainen, H., Forssten, S., Saarinen, M., Stowell, J., Rautonen, N., & Ouwehand, A. (2009). Xylo-oligosaccharides enhance the growth of bifidobacteria and *Bifidobacterium lactis* in a simulated colon model. *Beneficial Microbes*, 1(1), 81-91.
- Manderson, K., Pinart, M., Tuohy, K. M., Grace, W. E., Hotchkiss, A. T., Widmer, W., Yadhav, M.P., Gibson, G.R., & Rastall, R. A. (2005). In vitro determination of prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by-product stream. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8383-8389.
- Manning, T. S., & Gibson, G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(2), 287-298.
- Matussek, A., Czukur, B., & Merész, P. (2008). Comparison of sucrose and fructo-oligosaccharides as osmotic agents in apple. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 365-373.
- McBain, A.J., MacFarlane, G.T. (2001). Modulation of genotoxic enzyme activities by non-digestible oligosaccharide metabolism in in-vitro human gut bacterial ecosystems. *Journal of Medicinal Microbiology*, 50, 833–42.
- Modler, H. W. (1994). Bifidogenic factors—sources, metabolism and applications. *International Dairy Journal*, 4(5), 383-407.
- Moure, A., Gullón, P., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. *Process Biochemistry*, 41(9), 1913-1923.
- Morris, C., & Morris, G. A. (2012). The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. *Food chemistry*, 133(2), 237-248.
- O'Donnell, K., & Kearsley, M. (Eds.). (2012). *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*. John Wiley & Sons.
- Ojha, S., Mishra, S., & Chand, S. (2015). Production of isomalto-oligosaccharides by cell bound α -glucosidase of *Microbacterium* sp. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 486-494.
- Okada, H., Fukushi, E., Yamamori, A., Kawazoe, N., Onodera, S., Kawabata, J., & Shiomi, N. (2010). Novel fructopyranose oligosaccharides isolated from fermented beverage of plant extract. *Carbohydrate research*, 345(3), 414-418.
- Oliveira, R.P.Z., Perego, P., Oliveira, M.N., Converti, A. (2011). Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering* 107 (1) 36–40.
- Özyurt, V. H., & Ötleş, S. (2014). Prebiyotikler: Metabolizma İçin Önemli Bir Gıda Bileşeni. *Akademik Gıda* 12(1) 115-123.
- Palframan, R. J., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2002). Effect of pH and dose on the growth of gut bacteria on prebiotic carbohydrates in vitro. *Anaerobe*, 8(5), 287-292.
- Passos, L. M. L., & Park, Y. K. (2003). Frutooligosaccharídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. *Ciência Rural*.
- Patel, S., Goyal, A. (2011). Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27 (5) 1119-1128.
- Pechsrichuang, P., Yoohat, K., & Yamabhai, M. (2013). Production of recombinant *Bacillus subtilis* chitosanase, suitable for biosynthesis of chitosan-oligosaccharides. *Bioresource technology*, 127, 407-414.
- Phillips, G. O. (2013). Dietary fibre: A chemical category or a health ingredient?. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 3-9.
- Pilgrim, A., Kawase, M., Matsuda, F., & Miura, K. (2006). Modeling of the simulated moving-bed reactor for the enzyme-catalyzed production of lactosucrose. *Chemical engineering science*, 61(2), 353-362.
- Pocedicova, K., Curda, L., Misun, D., Dryakova, A., & Diblikova, L. (2010). Preparation of galacto-oligosaccharides using membrane reactor. *Journal of Food Engineering*, 99(4), 479-484.
- Prenosil, J. E., Stuker, E., & Bourne, J. R. (1987). Formation of oligosaccharides during enzymatic lactose hydrolysis and their importance in a whey hydrolysis process: Part II: Experimental. *Biotechnology and bioengineering*, 30(9), 1026-1031.
- Pu, J., Zhao, X., Xiao, L., & Zhao, H. (2017). Development and validation of a HILIC-ELSD method for simultaneous analysis of non-substituted and acetylated xylo-oligosaccharides. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (139), 232–237
- Qiang, X., YongLie, C., & QianBing, W. (2009). Health benefit application of functional oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 77(3), 435-441.

- Quigley, E. M. (2010). Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. *Pharmacological research*, 61(3), 213-218.
- Raman, R., Raguram, S., Venkataraman, G., Paulson, J. C., & Sasisekharan, R. (2005). Glycomics: an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans. *Nature Methods*, 2(11), 817-824.
- Resconi, V. C., Keenan, D. F., Gough, S., Doran, L., Allen, P., Kerry, J. P., & Hamill, R. M. (2015). Response surface methodology analysis of rice starch and fructooligosaccharides as substitutes for phosphate and dextrose in whole muscle cooked hams. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 946-958.
- Resconi, V. C., Keenan, D. F., Barahona, M., Guerrero, L., Kerry, J. P., & Hamill, R. M. (2016). Rice starch and fructooligosaccharides as substitutes for phosphate and dextrose in whole muscle cooked hams: Sensory analysis and consumer preferences. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 284-292.
- Renuka, B., Kulkarni, S. G., Vijayanand, P., & Prapulla, S. G. (2009). Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 42(5), 1031-1033.
- Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, 34, S105-S110.
- Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of nutrition*, 137(3), 830S-837S.
- Roberfroid, M., & Slavin, J. (2000). Nondigestible oligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40(6), 461-480.
- Rolim, P. M. (2015). Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology (Campinas)*, 35(1), 3-10.
- Romano, N., Tavera-Quiroz, M. J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., & Gómez-Zavaglia, A. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64, 560-566.
- Roy, D., Daoudi, L., & Azaola, A. (2002). Optimization of galacto-oligosaccharide production by *Bifidobacterium infantis* RW-8120 using response surface methodology. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29(5), 281-285.
- Rungrasamee, W., Kingcha, Y., Srimarut, Y., Maibunkaew, S., Karoonuthaisiri, N., & Visessanguan, W. (2014). Mannooligosaccharides from copra meal improves survival of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) after exposure to *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 434, 403-410.
- Rustom, I. Y., Foda, M. I., & Lopez-Leiva, M. H. (1998). Formation of oligosaccharides from whey UF-permeate by enzymatic hydrolysis—analysis of factors. *Food chemistry*, 62(2), 141-147.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 1-16.
- Sako, T., Matsumoto, K., & Tanaka, R. (1999). Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 9(1), 69-80.
- Silverio, S. C., Macedo, E. A., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2015). Perspectives on the biotechnological production and potential applications of lactosucrose: A review. *Journal of Functional Foods*, 19, 74-90.
- Singh, A. K., Ranjan, A. K., Srivastava, G., & Deepak, D. (2016). Structure elucidation of two novel yak milk oligosaccharides and their DFT studies. *Journal of Molecular Structure*, 1108, 87-91.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
- Spiegel, J. E., Rose, R., Karabell, P., Frankos, V. H., & Schmitt, D. F. (1994). Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technology*.
- Stowell, J. (2007). Chapter 4. Calorie control and weight management. In: Mitchell H (ed) *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*. Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1002/9780470996003.ch4.
- Suwa, Y., Koga, K., Fujikawa, S., Okazaki, M., Irie, T., & Nakada, T. (1999). U.S. Patent No. 5,939,309. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Tuohy, K. M., Rouzaud, G. C. M., Bruck, W. M., & Gibson, G. R. (2005). Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics-assessment of efficacy. *Current Pharmaceutical Design*, 11(1), 75-90.
- Valencia, M. S., Salgado, S. M., Andrade, S. A. C., Padilha, V. M., Livera, A. V. S., & Stamford, T. L. M. (2016). Development of creamy milk chocolate dessert added with fructooligosaccharide and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 104-109.
- van Loo, J. A. (2004). Prebiotics promote good health: the basis, the potential, and the emerging evidence. *Journal of clinical gastroenterology*, 38, S70-S75.
- Vazquez, M. J., Alonso, J. L., Dominguez, H., & Parajo, J. C. (2000). Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 11(11), 387-393.
- Vulevic, J., Drakoularakou, A., Yaqoob, P., Tzortzis, G., & Gibson, G. R. (2008). Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel transgalactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 1438-1446.
- Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 42(1), 8-12.
- Weijers, C. A., Franssen, M. C., & Visser, G. M. (2008). Glycosyltransferase-catalyzed synthesis of bioactive oligosaccharides. *Biotechnology advances*, 26(5), 436-456.
- Zhang, M., Cai, S., & Ma, J. (2015). Evaluation of cardio-protective effect of soybean oligosaccharides. *Gene*, 555(2), 329-334.
- Zhao, Y. T., Niu, S., Huang, L. B., Wang, J. M., Yin, Z. J., Li, Q., & Li, Z. J. (2013). Synthesis of raffinose family oligosaccharides by regioselective de-O-benzylation with Co 2 (CO) 8/Et 3 SiH/CO system. *Tetrahedron*, 69(24), 5022-5028.
- Zhu, Z. Y., Cui, D., Gao, H., Dong, F. Y., Liu, X. C., Liu, F., Chen, L., & Zhang, Y. M. (2016). Efficient synthesis and activity of beneficial intestinal flora of two lactulose-derived oligosaccharides. *European journal of medicinal chemistry*, 114, 8-13.
- Ziemer, C. J., & Gibson, G. R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *International Dairy Journal*, 8(5), 473-479.