

Gıda Üretimi ve Depolanması Sırasında Probiyotiklerin Canlılıklarını Etkileyen Faktörler

Ecem AKAN*¹ Özer KINIK²

¹Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Tel: +90 232 3112677, ecem.akan@ege.edu.tr

²Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Tel: +90 232 3111421, ozer.kinik@ege.edu.tr

*İletişimden sorumlu yazar / Corresponding author

Geliş / Recieved: 27 Ekim (October) 2015

Kabul / Accepted: 13 Aralık (December) 2015

DOI: <http://dx.doi.org/10.18466/cbujos.83380>

Özet

Probiyotik gıdaların vücudun dengesinin ve intestinal floranın doğal yapısının sürdürülmesi, patojenlerin gelişimine karşı direnç gösterme gibi sağlığa pek çok yararı bulunmaktadır. Probiyotik bakterilerin kullanıldığı fonksiyonel gıdalara karşı eğilim tüketicilerin bu gıdaların sağlığa olumlu etkilerinin fark etmeleri sebebiyle giderek artmaktadır. Probiyotiklerin bağırsak mikroflorasını patojenlere karşı koruma, bağışıklık sistemini güçlendirme, serum kolesterol seviyesini ve kan basıncını düşürme, antikarsinogenik etki gösterme, besin maddelerinden faydalanımın ve gıdaların besin değerinin artması gibi çok sayıda sağlığa faydası vardır. Günümüzde probiyotik bakteriler kullanılarak pek çok ürün üretimi gerçekleştirilmektedir. Probiyotiklerin sağlık üzerine olumlu etki gösterebilmesi için ürün tüketimi sırasında yeterli miktarda probiyotik bakterinin gıda ile birlikte vücuda alınması gerekmektedir. Ancak bazen probiyotik bakterilerin kullanıldığı gıdaların tüketimi sırasında vücuda yeterli dozda probiyotik alınmayabilmektedir. Çünkü ürün üretimi ve depolanması sırasında çeşitli faktörler probiyotik bakterilerin hayatta kalmalarını etkilemektedir. Gıdalarda probiyotik varlığı bazen ürün kalitesini ve duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Son yıllarda ürün üretiminden son tüketiciye ulaşana kadar probiyotiklerin canlılıklarının sürdürülmesi için farklı gıdalarda çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Bu uygulamalardan en önemlisi çeşitli koruyucular ilavesiyle üretim ve depolama koşullarının değişimi yoluyla enkapsülasyon tekniği yardımıyla mikroorganizmaların korunmasıdır. Bu makalede probiyotiklerin sağlığa yararlı etkileri, gıdaların üretimi ve depolanmaları sırasında gıdalarda yaşayabilirliklerini etkileyen faktörler, üretim ve depolama sırasında canlılıklarını sürdürmelerine yardımcı olabilecek teknolojik uygulamalar incelenecektir.

Anahtar kelimeler: Depolama, fonksiyonel gıda, probiyotik, teknolojik uygulama, üretim

Factors Effecting Probiotic Viability During Processing and Storage of Food

Abstract

Probiotic foods have several health benefits as they help maintain the human body balance and intestinal flora composition, and resist to pathogenic bacteria growth. The demand of probiotic functional foods is growing rapidly due to increased awareness of consumers about the impact of food on health. Probiotics provide a number of health benefits mainly through maintenance of normal intestinal microflora, protection against gastrointestinal pathogens, enhancement of the immune system, reduction of serum cholesterol level and blood pressure, anti-carcinogenic activity improved utilization of nutrients and improved nutritional value of food. During consumption of food, probiotics can't be taken to body sufficiently. Because in food production and storage, several factors can effect viability of probiotic microorganism. The presence of probiotics in food products may also adversely affect their quality and sensory properties. Several attempts have been made during the last few years to improve the viability of probiotics in different food products during their production until the time of consumption. The most important implementation is a microencapsulation technique and it enables to protect microorganism via several added

preservatives. In this article, it will be examined that the effects of probiotics on human health, factors responsible for survival of probiotic microorganisms, and recent technological advances in maintaining their viability during processing and storage.

Keywords: functional food, probiotic, processing, storage, technologic practice

1 Giriş

Probiyotikler yeterli miktarlarda vücuda alındıklarında konakçının sağlığına yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır [1]. Son yüzyılda farklı probiyotik bakteriler bazı hastalıkların engellenmesi ve tedavisinde probiyotik olarak kullanılmaktadır [2]. Probiyotik mikroorganizmalar kurutulmuş ya da dondurulmuş kültür konsantratları şeklinde probiyotik gıdalar (fermente ya da fermente olmamış) ile beraber veya diyet takviyeleri (toz, kapsül ve ya tablet şeklinde) olarak vücuda alınabilmektedirler.

Günümüzde en yaygın uygulama probiyotiklerin gıdalar yoluyla vücuda alınmasıdır. Pek çok probiyotik gıda fonksiyonel gıda olarak sınıflandırılmaktadır ve fonksiyonel gıdaların önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Tüketici farkındalığının artmasıyla birlikte probiyotik fonksiyonel gıdalara ilgi de giderek artmaktadır. Küresel piyasada 2000 yılında fonksiyonel gıda ve içeceklere 33 milyar dolar harcanırken 2013 yılında bu rakam 176.7 milyar dolara ulaşmıştır. Bu rakamda gıda marketlerine harcanan miktarın %5'ine denk gelmektedir [3,4]. Fonksiyonel gıda marketlerinin %60-70'ini probiyotik gıdalar oluşturmaktadır [5,6].

Son yıllarda probiyotik bakteri içeren süt ürünlerinde (fermente sütler, dondurma, peynir çeşitleri, dondurulmuş sütlü tatlılar, peynir altı suyu içeren içecekler vb.) önemli başarılar elde edilmiştir [7]. Bununla birlikte laktoz intoleransına karşı probiyotik bakteri içeren farklı gıdalarda geliştirilmektedir. Bunlara örnek olarak vejeteryanlara yönelik ürünler, tahıl içeren gıdalar, meyve suları, soya bazlı ürünler, kahvaltılık gevrekler ve bebeklere yönelik gıdalar verilebilir [8, 9, 10, 11, 12, 13]. Probiyotik gıdalar tüketim anında yeterli miktarda probiyotik mikroorganizma içermelidir. Bu yüzden seçilen probiyotik suşların üretim ve depolama sırasında üründe canlı kalması oldukça önemlidir. Bu makalenin amacı probiyotik gıdalar ve bu probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen faktörleri ve üretim, paketlenme ve depolama sırasında canlılıklarını sürdürebilmeleri için kullanılan son teknolojik yaklaşımları incelemektir.

2 Gıdalarda Probiyotik

Mikroorganizmalar

2.1 Probiyotiklerin Sağlığa Faydalı Etkileri

Probiyotiklerin bağırsak mikroflorasını patojenlere karşı koruma, [14,15] bağışıklık sistemini güçlendirme [8] serum kolesterol seviyesini ve kan basıncını düşürme [16] antikarsinojenik etki gösterme [16] besin maddelerinden faydalanımın ve gıdaların besin değerinin artması [16] gibi çok sayıda sağlığa faydası vardır. Probiyotiklerin bebek ishalleri, idrar yolları iltihapı, osteoporoz, gıda alerjileri ve atopik hastalıklar, kabızlığın giderilmesi, hiperkolesterolami, kolon ve mesane kanserlerine karşı korumada terapatik uygulamaları mevcuttur [15, 17, 18].

Gastrointestinal ve idrar yolları rahatsızlıkları, solunum hastalıklarının engellenmesi ve tedavisinde probiyotiklerin klinik uygulamalarını destekleyen kanıtlar bulunmaktadır [19]. *Lactobacillus* sp. suşları içeren fermente içilebilir yoğurdun kan serum kolesterol seviyelerini önemli derecede düşürdüğü saptanmıştır [20]. *Lactobacillus acidophilus* ilaveli çocuk mamalarının tüketimi ile serum kolesterol seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir [8].

Bazı araştırmacılar fermente fonksiyonel gıdaların sağlığa olumlu etkilerinin hem probiyotiklerin etkisinden hem de biyojenik etkiden kaynaklandığını savunmaktadır [20].

2.2 Probiyotik Gıdalarda Ticari Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar ve Probiyotik Seçimi

Pek çok türde mikroorganizma potansiyel probiyotik [21, 22] olarak düşünülmesine rağmen *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri probiyotik gıdalarda ticari olarak kullanılmaktadır. Bu iki bakteri suşlarının tercihinin birincil nedeni yıllardır ürünlerde güvenle kullanımları ve GRAS (genel olarak güvenilir kabul edilen) listesine dahil olmalarıdır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri insan bağırsağında baskındırlar. Bununla birlikte *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacteri*, ve *Sacchomyces* türü mayalar ve ipliksi fungusler (*Aspergillus oryzae* gibi) sağlığa etkileri sebebiyle probiyotik olarak kullanılmaktadır [13, 23].

Probiyotik bir gıda geliştirirken en önemli konu yeterli oranda uygun probiyotik suşun seçimidir.

Üretim ve depolamada, bağırsaklardan geçişi sırasında probiyotiklerin canlılıklarının sürdürülmesi uygun probiyotik seçiminde birincil nedendir [24, 25]. Farklı faktörlerden etkilenme oranları olarak karşılaştırıldığında Lactobacilli'ler Bifidobakterilerden genel anlamda daha dayanıklıdır [26,27]. Geleneksel fermente gıdalarda doğal olarak bünyelerinde bulunurlar. Lactobacilli'ler düşük pH değerlerine daha dirençlidirler süt ve diğer gıda substratlarına daha fazla adaptasyon gösterirler. Probiyotik Lactobacillus türlerinin büyük kısmı Bifidobakterilerle kıyaslandığında teknolojik işlemlere daha uygundur [28].

Probiyotiklerin sağlığa istenen faydalı etkiyi sağlayabilmeleri için tüketim anında ihtiyaç duyulan minimum canlı mikroorganizmayı içermeleri gerekmektedir. Gıda endüstrisinde genelde ürünün tüketim anında içerdiği probiyotik miktarı 10^7 CFU/ml'dir [29]. FDA probiyotik gıdalarda probiyotik miktarının tüketim anında en az 10^6 CFU/ml olmasını tavsiye etmektedir. Sindirilen miktar ve probiyotik canlılığına depolamanın etkisi dikkate alındığında insan organizmasında probiyotik etkinin görülebilmesi için gerekli miktarın en az 10^8 - 10^9 olması gerektiği belirtilmiştir [8]. Sindirim sistemi içerisine yaklaşık 10^9 canlı probiyotik geçmesi için günlük 100 gram probiyotik ürün tüketilmesi tavsiye edilmektedir [30].

3 Üretim ve Depolama Sırasında Probiyotiklerin Canlılıklarının Sürdürülmesi

Probiyotik gıdaların medikal etkinlikleri tüketim sırasında ürünün tüketim miktarı ile birlikte canlı aktif hücrelerin sayısına bağlıdır [31]. Üretim ve ürünün raf ömrü boyunca probiyotiklerin canlı kalmasını sağlamak oldukça önemlidir [32, 33].

Farklı gıdaların üretimleri sırasında probiyotiklerin tüketim anına kadar canlılıklarını sürdürmelerini sağlamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Üretim, işleme ve depolama sırasında gıda ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen çok sayıda faktör belirlenmiştir. Tanımlanan bu faktörler gıda parametreleri (pH, titre edilebilir asitlik, moleküler oksijen, su aktivitesi, tuz, şeker, hidrojen peroksit benzeri kimyasal maddeler, bakteriyosinler, yapay lezzet vericiler ve renk maddeleri), gıda işleme parametreleri (ısı uygulaması, inkübasyon sıcaklığı, ürünün soğutma oranı, paketlenme materyalleri, depolama yöntemleri) ve mikrobiyal faktörler (probiyotik suşları,

inokülasyon miktarı ve oranı) olarak sınıflandırılmaktadır.

3.1 İşleme Sırasında Probiyotiklerin Canlılığını Etkileyen Faktörler

3.1.1 Fermentasyon Koşulları

Fermentasyon sıcaklığı probiyotik mikroorganizmaların canlılığını ve bu ürünlerin diğer kalite kriterlerini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Çoğu probiyotik mikroorganizmanın en iyi gelişim sıcaklığı 37 - 43 °C aralığındadır [28, 29, 30]. *L. acidophilus* gibi bazı türler 45 °C üzeri sıcaklıklarda da gelişebilmesine rağmen en uygun sıcaklık 40 - 42 °C'dir. İşlem sırasında 45 - 50 °C üzeri sıcaklıklar probiyotiklerin canlılığını olumsuz yönde etkilemektedir. Probiyotiklerin canlı kalmalarını sağlamak için yüksek sıcaklığa maruz kalma sürelerinin azaltılması gerekmektedir. Isıtma/pişirme/pastörizasyon işlemlerinde işlem sonrası gıdaya probiyotik eklenmesi önerilmektedir [28].

Fermentasyon sırasında oksijenle temas oksijene duyarlı bakterilerin canlılığının kaybedilmesinde önemli rol oynamaktadır [32]. Fermentasyon sırasında oksijen içeriğini azaltmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden bir tanesi vakum altında fermentasyonu gerçekleştirmektir [33].

Probiyotik bakterilerin ısı stresine karşı dirençleri, kullanımlarından önce orta derecede bir ısı uygulamasıyla arttırılabilmektedir. Ölümcül olmayan ısı şok uygulaması bakterilerin ikincil ısı stresini tolere edebilmelerine izin vermekte ve ısı adaptasyonu Lactobacillilerin ısıya karşı toleranslarını arttırmaktadır [8]. Isı stresinden önce canlı mikroorganizmaların ısı adaptasyonunun Lactobacilli ve Lactococillilerin ısı toleranslarını geliştirmede olumlu etkilerinin olduğunu açığa çıkarmaktadır.

3.1.2 Dondurma

Probiyotik mikroorganizmalar dondurulmuş ürünlerde uzun bir süre canlılıklarını korumaya çalışmaktadırlar. Bununla birlikte probiyotiklerin hücre membranları dondurma işlemi sırasında hücre dışında veya içindeki ortamda oluşan buz kristallerinin mekanik stresinden dolayı zarar görmektedir ve bu nedenle canlılıklarını yitirebilmektedirler. Dondurma işlemi sırasında hücreler dehidre olmaktadır ve bu yüzden hücrelerin önemli metabolik aktiviteleri azalmakta ya da zarara uğramaktadır [34]. Dondurma hızı da hücrelerin canlılığını etkilemektedir. Dondurma işlemi yavaş gerçekleştiğinde bü-

yük buz kristalleri oluşmakta ve hücreler zarar görmekte, hızlı dondurma işleminde probiyotikler canlılıklarını sürdürebilmektedirler [35-37].

3.1.3 Kurutma

Probiyotik gıdalar bazen raf ömürlerinin uzatılması ve dondurularak saklamadan oluşan maliyeti azaltmak için uygun sıcaklıkta kurutulmaktadır. Kurutma işlemi probiyotiklerin depolanması, işlenmesi, taşınması ve fonksiyonel gıda uygulamalarında sonradan kullanımları açısından kolaylık sağlamaktadır. Kurutma probiyotik gıdalarda probiyotiklerin canlılığını kaybetmelerine neden olabileceğinden ciddi bir uygulamadır [38].

Sıcak havada kurutma, dondurarak kurutma, sprey kurutma ve vakum kurutma gıdaları kurutmada kullanılan yaygın yöntemlerdendir. Püskürterek kurutma sıvı ürünler için en yaygın kullanılan ve ekonomik olan bir yöntemdir. Bununla beraber püskürterek kurutma işlemi çok yüksek sıcaklık, mekanik işlemler, dehidrasyon ve osmotik basınç nedeniyle probiyotik hücrelerin ölümüne neden olmaktadır.

Dondurarak kurutmada probiyotikler canlılıklarını sürdürebilmektedir ancak bu yöntemde pahalı olduğundan kullanım olanakları sınırlıdır.

Son yıllarda akışkan yatakta kurutma ve radyan enerji vakum kurutma tekniği probiyotiklerin hava stabilitelelerini geliştirmek amacıyla başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [12, 39]. Akışkan yatakta kurutma işlemi uygulandığında *Lactobacillus casei* CRL 431 52 hafta boyunca 25 ° C'de depolandığında 2.5 log CFU/g gibi yüksek canlılığa sahip olduğu saptanmıştır [39].

3.1.3.1 Gelişim Ortamı ve Probiyotiklerin Kurutma Sırasında Canlı Kalma Oranları

Kurutma sırasında probiyotiklerin canlı kalma oranı gelişme ortamının bileşimine ve karbonhidratların varlığına bağlıdır. Koruyucu etki aslında şekerin tipine bağlı olarakta değişmektedir. Carvalho ve arkadaşları [48] ortamda bulunan mannoz ile diğer fruktoz, laktoz ve glukoz gibi şekerleri karşılaştırdıklarında *L. bulgaricus*'un mannoz bulunan ortamda dondurarak kurutma sonrasında canlılığını daha iyi sürdürdüğünü saptamışlardır. Ayrıca aynı araştırmacılar standart gelişim ortamı olarak kullanılan glukozun fruktoz ve sorbitol ile karşılaştırıldığında en az etkiye sahip standart olduğunu belirtmişlerdir.

Panoff ve arkadaşları [49] yaptıkları bir çalışmada *L. delbrueckii* sub sp. *bulgaricus*'un ortamda laktoz, sakkaroz gibi şekerler var iken kurutma işlemine adapte olup etkilenmediklerini saptamışlardır. Benzer bir şekilde hücrelerin geliştiği ortamda sakkaroz var iken *L. sakei*'nin sprey kurutma işleminden pek etkilenmediğini gözlemişlerdir [40].

3.1.3.2 Hücre Koruyucular İlavesi

Koruyucular kurutma öncesi kurutma ortamına ilave edilen probiyotik hücrelerin canlılığını sürdürmelerine yardımcı olan maddelerdir. Bu maddeler yağsız süt tozu, peynir altı suyu proteinleri, gliserol, betain, adonitol, laktoz, dextran ve polietilen gliserol gibi polimerlerdir [41]. Gliserol gibi uyumlu kriyokoruyucular (donma etkisinden koruyan) probiyotiklerin ortama iyi uyum sağlayabilmeleri için dondurarak kurutma öncesinde eklenirler bu şekilde iç ve dış çevredeki osmotik basınçtaki farklılıklar azaltılır [42].

3.1.4 Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon probiyotik mikroorganizmaların çevresinde fiziksel bir bariyer oluşturarak olumsuz çevre koşullarına karşı mikroorganizmanın canlılığını korumasını sağlama tekniği olarak tanımlanabilmektedir [43]. Probiyotik hücreleri enkapsüle etmek için aljinat, bitkisel/mikrobiyal gumlar, kitozan, nişasta, K-karregenan, selüloz asetat fitilat, jelatin, yağ ve süt proteinleri kullanılmaktadır [44, 45]. Son yıllarda suda çözünmez protein kaynaklı hidrojeller probiyotik hücrelerin enkapsülasyonunda polisakkarit hidrojellerine alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [46, 47]. Gıdalarda veya gastrointestinal geçişlerde depolama ve işleme sırasında probiyotiklerin canlılıklarını sürdürebilmek için mikroenkapsülasyon tekniğinin kullanım potansiyeli yüksektir [50]. Probiyotik hücreleri üretim, işleme ve depolama sırasında olumsuz koşullardan korumak amacıyla mikroenkapsülasyon tekniği başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Bu olumsuz koşullara örnek olarak ta yüksek asitlik [50], safra tuzları [51], püskürterek kurutma sırasında olabilecek ısı şoku, dondurma sırasında soğuk şoku [22], anaerobik mikroorganizmaların oksijenle karşılaşması [52], bakteriyofajlar [60], kimyasal antimikrobiyal ajanlar [53] verilebilir. Ayrıca mikroenkapsülasyon duyuusal özelliklerin [54] stabilizasyon ve gelişimine yardımcı olmaktadır.

Ding ve Shah mikroenkapsüle edilmiş 8 probiyotik bakteri suşunu asitlik, safra tuzları ve ısı toleransı

açısından karşılaştırmıştır. Mikroenkapsüle edilmiş probiyotik bakteriler serbest hücreler (kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında canlılıklarını daha uzun süre sürdürdükleri tespit edilmiştir. Kontrol grubunun canlılığında 6.51 log CFU/ml'lik düşüş gözlenirken mikroenkapsüle edilen suşlarda 3.36 log CFU/ml'lik düşüş saptanmıştır [55].

Soğukta depolanan fermente süt ürünlerinde mikroenkapsüle edilmemiş probiyotik hücrelerinin canlılıklarında mikroenkapsülasyon tekniği uygulananlara göre 2 logdan daha fazla bir düşüş tespit edilmiştir [11]. pH değeri 4.2'den daha düşük olan fermente süt içeceklerinde *L. acidophilus* LA-5 serbest hücrelerinin sayıları 1 hafta depolamadan sonra 10^6 CFU/ml'nin altına düşmüştür. Benzer durum Bifidobakterilerde 2 hafta sonra depolama sonrasında görülmüştür. Enkapsüle edilmiş hücrelerde ise *L. acidophilus* ve Bifidobakterilerin canlılıklarının 42 gün depolama sonrasında dahi 10^6 CFU/ml'nin üzerinde olduğu saptanmıştır [11].

Ying ve arkadaşları [45] ticari *Lactobacillus rhamnosus* GG 'yi peynir altı suyu proteini ve nişasta ile emülsiyon bazlı formülasyona stabilize etmişlerdir ve püskürterek kurutma ya da dondurarak kurutma sonrasında bakterilerin canlılıklarının kaybında fark saptamamışlardır.

İnülin ve oligofruktozlar da kapsülasyon tekniklerinde kullanılmaya çalışılmaktadır. Oligofruktozdan üretilen mikrokapsüller daha higroskopik iken inülin bazlı mikrokapsüllerin suda çözünmesi uzun zaman almaktadır. Prebiyotikler genellikle mikrokapsüllerin su aktivitesini düşürmektedirler. Yapılan çalışmada oligofruktozla zenginleştirilmiş inülinin Bifidobacterium BB-12'nin enkapsülasyonu için en uygun prebiyotik olduğu belirlenmiştir. İnülin sindirim enzimleri tarafından parçalanmadığı için prebiyotik suşlar için enkapsülasyonda kullanılacak önemli bir prebiyotiktir [56].

3.2 Depolama Sırasında Probiyotiklerin Canlılıklarını Etkileyen Faktörler

Gıdanın bileşimi, paketleme materyalinin çeşidi ve depolama koşulları (depolama sıcaklığı, nispi nem, oksijen içeriği, ışığa maruziyet vb.) probiyotiklerin canlılıklarını önemli ölçüde etkilemektedir [17].

3.2.1 Gıda Bileşenleri ve Katkı Maddeleri

Gıda bileşenleri koruyucu, ürünün özelliklerini değiştirmeyen ve probiyotik stabilitesine zarar vermeyen nitelikte olmalıdır [17]. Bu yüzden farklı

gıda bileşenlerinin probiyotiklerle uyumu probiyotiklerin canlılıkları için önemli rol oynamaktadır. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan katkı maddeleri, tatlandırıcılar, tuzlar, aroma vericiler, doğal yada yapay lezzetlendiriciler, renklendiriciler, nisin, natamisin, lizozim ve nitritlerdir. Bu katkı maddeleri ürünlerde probiyotik bakterilerin gelişim ve canlılıklarını olumsuz şekilde etkilemektedir [57]. Bu bileşenlerin yüksek miktarları probiyotiklerin depolama sırasında gelişimini engelleyebilmektedir [28, 29]. Örneğin küreme ajanlarından sodyum nitrit et karışımına koruyucu madde olarak genellikle ilave edilmekte ve etin fermentasyonunda probiyotik bakterilerin gelişiminde sıkıntılar oluşturabilmektedir [6].

Glikoz, vitamin, mineraller, kazein, peynir altı suyu protein hidrolizatları, maya ekstratları ve antioksidanlar süt ürünlerinde probiyotik türlerin (*Lactobacillus* ve *Bifidobacteria*) gelişim oranını arttırmak için ilave edilebilmektedir. Bu ilave edilen maddeler depolama sırasında probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını olumlu anlamda etkilemektedir [37]. Bazı protein türevleri (peynir altı suyu protein konsantratları, asit kazein hidrolizatları ve tripton) hücrelere besin sağlayarak, ortamın redoks potansiyelini düşürerek ve tamponlama kapasitesini artırarak probiyotiklerin gelişimini teşvik etmek için kullanılabilirler [11]. *L. acidophilus* ve *Bifidobacteria* hücrelerinin canlılıkları L-sistin, peynir altı suyu protein konsantratı, asit kazein hidrolizatı ve tripton ilavesiyle gelişmiştir. Kazein ve peynir altı suyu protein hidrolizatları fermente sütlerde probiyotik bakteriler *L. acidophilus* La-5 ve *L. rhamnosus* Lr-35'in gelişim oranını üretim aşamaları sırasında azaltmıştır fakat bu bakterilerin depolama sırasında canlılık oranlarının arttığı saptanmıştır [58].

Depolama sırasında disakkarit varlığı hücre membranını stabilize edebilmektedir [59, 60]. Örneğin sorbitol, membran hasarını engellemektedir ve protein yapısını ve fonksiyonelliğini stabilize etmektedir [8]. Fruktoligosakkaritler ve galaktoligosakkaritler gıdalarda probiyotik canlılığını olumlu bir şekilde etkilemektedir [61, 62]. Bu bileşenler sindirilemeyen bileşenlerdir ve prebiyotikler olarak tanımlanmaktadır.

Katı gıdalarda matriksler (örneğin peynirde jel yapısı) probiyotik hücrelerin zararlı faktörlerden etkilene düzeyini azaltmaktadır [31]. Yüksek yağ içeriği, anaerobik çevre, matriksin tamponlama kapasitesi üründe ve bağırsak geçişlerinde

probiyotiklerin yüksek oranda canlı kalmalarına yardım etmektedir [28]. Sütün tamponlama kapasitesinin artırılması fermente süt ürünlerinde depolama sırasında yüksek pH değerlerinin sürdürülmesini sağlar ve bu şekilde probiyotiklerin canlılıkları yüksek şekilde devam eder. Ayrıca ürün matriksinin kuru maddesi hidrojen iyonlarını absorblar ve bunun sonucunda çözünmeyen organik asit miktarında artış olur böylece probiyotikler üzerinde bu bileşenlerin bakterisidal etkisinde düşüşler olmaktadır [31, 63]. Yapılan bir çalışmada Cheddar peynirinin probiyotik mikroorganizmalar olan *Lactobacilli* ve *Enterococci*' nin sindirim sisteminde gıda taşıyıcısı olarak yoğurda göre daha etkili olduğu saptanmıştır [2].

3.2.2 Oksijen İçeriği ve Redoks Potansiyeli

Oksijen içeriği ve redoks potansiyeli ürünün depolama süresi boyunca probiyotiklerin canlılığını etkileyen önemli faktörler arasındadır [28]. Moleküler oksijen probiyotiklerin hayatta kalmasını ve gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Anaerobik türler moleküler oksijenden en çok etkilenen türlerdir [64, 65]. Oksijen probiyotikleri 3 şekilde etkilemektedir. Bunlar;

- Bazı hücreler için oksijen toksiktir
- Oksijen varlığında bazı kültürler toksik peroksitler üretmektedir
- Bazı gıda bileşenlerinin (yağ) oksidasyonu sonucunda oluşan serbest radikaller probiyotik hücreler için toksiktir [31].

Probiyotik ürünlerde ambalaj içerisindeki oksijen miktarı toksisiteyi ve mikroorganizmaların gelişimini engellemek ve ürünün fonksiyonelliğini korumak için en düşük seviyede tutulmalıdır.

Probiyotiklerin farklı türleri ve suşları arasında oksijene duyarlılık derecesi çeşitlenmektedir [24, 66, 67]. Bifidobakteriler *L. acidophilus*'a göre oksijene daha duyarlıdır çünkü anaerobik yapıdadırlar. Bifidobakteriler arasında fermente sütlerden izole edilen *B. lactis* oksijene toleranslı türlerdendir. NAD-oksidaz ve NADH-peroksidaz havaya toleranslı türlerdir ve bu enzimler hücrelerarası ortamdan oksijen uzaklaştırılmasından sorumludur [68].

Ürünün oksijen içeriğine ilaveten ambalaj materyalindeki oksijende ürüne geçer. Bu durumda fermente süt ürünlerinde *L. acidophilus* ve Bifidobakterilerin canlılığı olumsuz olarak etkilenmektedir [69]. Dave ve Shah yoğurtta Bifidobakterilerin oksijen içeriği ve redoks potansiyeline bakılmaksızın 35 günden daha uzun süre

depolamada canlı kaldıklarını saptamışlardır. Yoğurtta çözünmüş oksijenin artırılması sonucunda Bifidobakteriler raf ömrü boyunca 10^6 cfu/ g düzeylerinde kalırken, *L. acidophilus* bir haftada 10^3 cfu/g düzeylerine düşmüştür [70].

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerin model sistemde DNA'ya zarar verdiği saptanmıştır [71]. Bu yüzden oksidasyonu minimize etmek ve depolama süresince probiyotik canlılığını maksimize etmek için vakum altında depolama ve antioksidan kombinasyonu etkili olmaktadır [72].

Probiyotik gıdaların paketlenmesi ve depolanması sırasında oksijen içeriğini azaltmak için farklı yöntemlere başvurulmaktadır. Bu yöntemler vakum paketlenme, düşük oksijen geçirgenliğine sahip ambalaj materyalleri kullanımı, antioksidan ve oksijen tutucular ilavesi ve üretim sırasında ürüne oksijen geçişini engellemek olarak değerlendirilebilir [31, 69, 70]. Kateşinler gibi antioksidan bileşenler de probiyotiklerin gelişimi ve depolanması sırasında bakterilerin oksijene maruziyeti sonucu meydana gelen olumsuz etkileri sınırlamaktadır [32]. Araştırmacılar (+) kateşin, epigallo kateşin, galat ve yeşil çay ekstratlarının farklı konsantrasyonlarının probiyotik suşların gelişimi üzerine etkilerini belirlemişlerdir. Sonuçlar kateşinlerle zenginleştirilen ortamın Bifidobakterilerin gelişimini teşvik etmediği saptanmıştır. Bununla beraber, aerobik koşullar altında yeşilçay ekstratları ilave edilen ortamda *L. helveticus*'un gelişimi sağlanmıştır. Benzer sonuçlar antioksidan olarak E vitamini ile zenginleştirmede de gözlenmiştir. *L. casei* CRL 431 25 ° C'de 20 hafta depolamada stabilitesini korumuştur [39].

3.2.3 Nem İçeriği/Su Aktivitesi

Probiyotik ürünlerin raf ömrünü etkileyen önemli faktörlerden biri de nem içeriğidir. Oksijen ve nem varlığında probiyotik bakterilerin hayatta kalması zorlaşmaktadır [69]. Kurutma işlemi sonrası kalan su üretim aşamaları ve depolama sırasında probiyotiklerin canlılıklarını etkilemektedir. Kurutularak dondurulmuş *L. salivarius* subsp. *salivarius* depolamada optimum nem içeriği % 2.8- 5.6 arasında değişmektedir [71]. Ürünlerin depolandığı çevrenin nispi neminin artması suyun doku içinde hareketliliğinde dolayısı ile de probiyotiklerin canlılıklarında kayıplar artışa neden olmuştur [45]. Weinbreck ve arkadaşları su aktivitesi değeri 0.7 iken 2 haftalık depolamada *L. rhamnosus* GG canlı sayılarında 10 log düşüş saptamışlardır [72].

3.2.4 Depolama Sıcaklığı

Probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörlerden bir diğeri de depolama ortamının sıcaklığıdır [73]. Probiyotik gıdaların 4-5 ° C'de depolanmaları tavsiye edilmektedir [74]. Yoğurtta *L. acidophilus* LA-5 2 ° C'de 20 gün kadar depolandığında yüksek canlılık gösterirken *Bifidobacterium lactis* BB-12 için optimum depolama sıcaklığı 8 ° C tespit edilmiştir [74, 75]. Bu durum Bifidobakteri hücrelerinin düşük depolama sıcaklıklarına düşük direnç gösterdiğinin bir kanıtıdır [31]. Bununla beraber dondurularak kurutulmuş probiyotiklerde uzun süreli depolamada Bifidobakterilerin - 18° C'den daha düşük sıcaklıklarda en yüksek canlılığa sahip oldukları Bruno ve Shah [76] tarafından belirlenmiştir. Depolama sıcaklığı 20 °C olduğunda kurutulmuş ürünlerde canlı probiyotik sayısında önemli azalmalar saptanmıştır [76].

3.2.5 pH ve Titre Edilebilir Asitlik

Depolama sırasında probiyotiklerin hayatta kalmalarını pH ve titre edilebilir asitlik değerlerinden etkilemektedir [11]. Çok düşük pH değerleri fermente ürünlerde çözünmeyen organik asit konsantrasyonunu arttırmakta bu şekilde bu asitlerin bakterisidal etkisi artmaktadır. Meyve suları gibi düşük pH'ya sahip içeceklerde probiyotiklerin gelişimi oldukça zordur.

Lactobacillus acidophilus ve Bifidobakteri optimum gelişim pH aralığı 5.5-6 ve 6-7 aralığındadır [64]. *Lactobacilli*'ler fermente ürünlerde 3.7-4.3 aralığında gelişebilmektedirler [29]. Bifidobakteri türleri asite daha az toleranslıdır ve 4.6 pH değerinden daha düşük değerlerde canlılıklarını sürdürmeleri zorlaşmaktadır [28, 77].

Bifidobacterium spp.'nin aside toleransı türlerin suşuna ve substratın karakteristiğine bağlıdır. Örneğin *B. longum* asit ve safra tuzları varlığında canlılıklarını sürdürmektedir [31]. Sheehan ve arkadaşları portakal, ananas, yaban mersinli meyve sularına *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* ilave edildiğinde asit dirençlerinde belirgin farklılıklar görmüşlerdir [78]. Portakal ve ananas suları yaban mersiniyle karşılaştırıldığında tüm suşların daha iyi geliştiği saptanmıştır. Farklı suşlar arasında *L. casei*, *L. rhamnosus* ve *L. paracasei* portakal ve ananas sularında en az 12 hafta 6 log CFU/ml seviyelerinden üst düzeyde saptanmıştır [13]. Fermente et ürünlerinde pH düşüşleri probiyotiklerin hayatta kalmalarını olumsuz yönde etkilemektedir. Fermentasyon sonrası pH 5.6'dan 4.9'a düştüğünde fermente sosislerde *L. rhamnosus* GG ve E-97800 gelişimini etki-

lemektedir [79]. Pek çok çalışmada fermente etlerde hücre canlılığının suşa bağlı olduğu saptanmıştır [6].

Suş seçimi probiyotik gıdaların geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Seçilen bu suşlar ürünün raf ömrü boyunca canlı kalmalı ve tüketicinin sağlığına faydalı etkiyi göstermelidir. Safraya ve asite duyarlılık probiyotik gıdalarda suşların performansını belirlemektedir [8].

3.2.6 Ambalajlama

Ambalajlamada ambalaj materyalinin çeşidi, kalınlığı, gazlar (O₂, CO₂ ve su buharı) ambalaj materyalinin geçirgenliği, ambalajlama tekniği (vakum, modifiye, aktif/akıllı ambalajlama sistemleri) probiyotiklerin canlılığını etkilemektedir [31]. Atmosferin sıcaklığı ve nispi nemi ambalaj materyalinden gaz geçişini böylelikle de probiyotiklerin canlılığını etkilemektedir [39]. Probiyotik süt ürünleri ve diğer ürünlerin çoğu marketlerde yüksek oksijen geçirgenliğine sahip plastik ambalajlarda depolanmakta ve satılmaktadır. Bu durum probiyotiklerin gelişimi ve hayatta kalmaları için ciddi bir problem oluşturmaktadır. Yüksek oksijen bariyer özelliğinde ve oksijen absorbe eden aktif paketler kullanımı pek çok çalışmada değerlendirilmiştir [33].

Cam ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) şişelerde ambalajlanmış yoğurtlarda *L. acidophilus*'un canlılığı değerlendirilmiştir [87]. HDPE ambalajlarda çözünmüş oksijen seviyesi önemli derecede artarken cam şişelerde oksijen seviyeleri 35 gün depolama boyunca düşük düzeylerde kalmıştır. Farklı bir araştırmada araştırmacılar manda sütünü çömlekte, plastik kaplarda ve cam şişelerde fermente etmişlerdir ve 29 °C depolamada Bifidobakterilerin en iyi cam şişede daha sonra sırasıyla plastik kapta ve çömlekte geliştiğini saptamışlardır. Bakterilerin canlılıkları arasındaki farklılık ambalaj materyallerinin oksijen geçirgenlik derecesiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir [80]. Polimerik materyallerin geçirgenliği kristallenmenin artmasıyla azalmaktadır. Bununla beraber bakteri sayılarının ambalaj materyalinin kristallenme derecesiyle orantılı olarak değişmediği ortaya konmuştur [81]. Miller ve arkadaşları yüksek oksijen ve gaz bariyer özellikli çok katlı farklı polimerik materyalleri probiyotik yoğurt depolamasında kullanmışlardır. Araştırılan materyaller arasında depolama süresi boyunca çözünmüş oksijen seviyelerinde önemli farklılıklar saptanmıştır [82, 83]. Polistren ambalajlarda oksijen seviyesi

20'den 40 ppm'e kadar yükselirken çok katlı filmlerde oksijen seviyeleri 42 günlük depolama sonunda 10 ppm seviyelerine düşmüştür. Arzu edilen anaerobik çevrede (1 ppm'den daha az oksijen) probiyotik kültürlerin canlılıklarını geliştirmek için en iyi koşullar oksijen uzaklaştırıcı ajanlarla beraber oksijen bariyerli materyaller kullanılarak paketlenen yoğurtlarda sağlanmıştır [70, 83]. Araştırma sonuçları probiyotik gıdaların ambalajlanmasında oksijen absorbe edici maddelerin kullanımının önemini ortaya koymaktadır.

Cruz ve arkadaşları glukoz oksidaz ilave edilen ve farklı oksijen geçirgenliklerine (0.09-0.75 ml O₂/gün) sahip farklı plastik ambalajlar kullanılarak ambalajlanan probiyotik yoğurtların stabilitesini değerlendirmişlerdir [84]. Düşük oksijen geçirgenliğine sahip plastik ambalajlarda çözünmüş oksijen seviyesi düşüktür ve soğukta depolama sırasında probiyotik bakterilerin canlılıkları da yüksek seviyededir. Ayrıca bu örneklerde geç asitlenme ve organik asit üretimi de olmaktadır.

Oldukça düşük oksijen geçirgenliğine sahip cam ambalajlar probiyotik kültürlerin canlılığını olumlu yönde etkilemektedir. Bununla beraber camın maliyetinin yüksekliği ve işlemede kırılma gibi tehlikelerinden dolayı probiyotik fermente ürünler plastik materyallerde ambalajlanmaktadır. Bu kapsamda vakum paketlenme, ambalaj materyaline oksijen absorbe edici bileşenler ilavesi, oksijen bariyerli aktif ambalajlar gibi alternatif yaklaşımlardan probiyotik gıdaların ambalajlanmasında yararlanması gerekmektedir.

4 Sonuç

5 Referanslar

- [1] Anonymous. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf 2011. Accessed 2013.
- [2] Lee, Y. K.; Nomoto, K.; Salminen, S.; Gorbach, S. L. Handbook of probiotics. New York, NY: JohnWiley and Sons, 1999.
- [3] Granato, D.; Branco, G. F.; Cruz, A. G.; Faria, J. A. F.; Nazzaro, F. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010; 9, 292-302.

Probiyotikler geleneksel fermente süt ürünlerinin dışında farklı gıda sistemleri içerisinde dahil edilmişlerdir ve günümüzde pek çok probiyotik ürün market raflarında bulunabilmektedir. Üretim ve depolama sırasında probiyotiklerin canlılıkları çeşitli faktörlerden etkilendiği için tüketicilerin sağlığına yararlı etkiyi sağlayabilecek probiyotik miktarını sağlamak zor olabilmektedir. Bu çerçevede mikroenkapsülasyon tekniği kullanımı, hücre koruyucu ajanlar, gelişimi teşvik eden gıda bileşenleri ilavesi, oksijen bariyerli ambalaj materyalleri, anti-oksidanlar ve depolama ortamının modifikasyonu mikroorganizmaların canlılıklarını önemli ölçüde geliştirmekte ve korumalarına yardımcı olmaktadır.

Uygun enkapsülasyon ya da hücre koruyucu materyali seçimi oldukça önemlidir ve işlemin etkinliğini belirlemektedir. Ayrıca günümüzde sinbiyotik ürün kullanımına da giderek ilgi artmaktadır. Probiyotikler bağırsak kolonuna ulaştığında içerdikleri prebiyotikler probiyotik bakterilerin canlı kalmaları ve kolona tutunmaları için kullanılmaktadırlar.

Tek başına mikroenkapsülasyon tekniği kullanımı probiyotik canlılığını kısıtlı olarak geliştirebilmektedir. Mikroenkapsülasyonu çeşitli gıda işleme teknolojileriyle kombine etmek üretim ve depolamada probiyotiklerin canlılıklarını geliştirmelerine yardımcı olacaktır. Yüksek basınçta işleme (HPP), vurgulu elektrik alan (PEF), aktif ve akıllı paketlenme gibi yeni işlem ve ambalajlama teknolojileri gıdalarda probiyotiklerin canlılıklarını geliştirmeleri ve korumaları açısından faydalı olacaktır. Ayrıca gen teknolojisi gelecekte yeni suşlar geliştirilmesinde önemli rol oynayacaktır.

[4] Hennessy, M. What's driving growth in functional food and beverages? A convergence of nutrition, convenience and taste. <http://www.nutraingredients-usa.com/Markets/Whats-driving-growth-in-functional-food-and-beverages-Aconvergence-of-nutrition-convenience-and-taste>. 2013; Accessed 2014.

[5] Holzapfel, W.H. Introduction to prebiotics and probiotics. In I. Goktepe, V. K. Juneja, & M. Ahmedna (Eds.), *Probiotics in food safety and human health*, New York: CRC Press. 2006; 1-35,

[6] Kołozyn-Krajewska, D.; Dolatowski, Z. J. Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry* (Barking, London, England), 2012; 47, 1761-1772.

[7] Mohammadi, R.; Mortazavian, A. M. Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. *Food Reviews International*, 2011; 27, 192-212.

[8] Tripathi, M.K.; Giri, S.K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 2014; 9, 225–241.

[9] Chen, M.; Mustapha, A. Survival of freeze-dried microcapsules of α -galactosidase producing probiotics in a soy bar matrix. *Food Microbiology*, 2012; 30(1), 68–73.

[10] Gupta, S., Abu-Ghannam, N. Probiotic fermentation of plant based products: Possibilities and opportunities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012; 52(2), 183–199.

[11] Mortazavian, A. M.; Khosrokhvar, R.; Rastegar, H.; Mortazaei, G. R. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh (Iranian fermented milk drink). *Italian Journal of Food Science*, 2010; 22, 98–102.

[12] Noorbakhsh, R.; Yaghmaee, P.; Durance, T. Radiant energy under vacuum (REV) technology: A novel approach for producing probiotic enriched apple snacks. *Journal of Functional Foods*, 2013; 5, 1049–1056.

[13] Rivera-Espinoza, Y.; Gallardo-Navarro, Y. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 2010; 27, 1–11.

[14] D’Aimmo, M. R.; Modesto, M.; Biavati, B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. Isolated from dairy and pharmaceutical products. *International Journal of Food Microbiology*, 2007; 115(1), 35–42.

[15] Lourens-Hattingh, A.; Viljoen, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 2001; 11(1–2), 1–17.

[16] Rasic, J. L. Microflora of the intestine probiotics. In B. Caballero, L. Trugo, & P. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of food sciences and nutrition*, Oxford: Academic Press, 2003; 3911–3916.

[17] Mattila-Sandholm, T.; Myllarinen, P. M.; Crittenden, R.; Mogensen, G.; Fonden, R.; Saarela, M. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 2002; 12, 173–182.

[18] Venturi, A.; Gionchetti, P.; Rizzello, F.; Johansson, R.; Zucconi, E.; Brigidi, P. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: Preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1999; 13(8), 1103–1108.

[19] Gardiner, G. E.; Bouchier, P.; O’Sullivan, E.; Kelly, J.; Kevin Collins, J.; Fitzgerald, G. A spray-dried culture for probiotic Cheddar cheese manufacture. *International Dairy Journal*, 2002; 12(9), 749–756.

[20] Stanton, C.; Ross, R. P.; Fitzgerald, G. F.; Van Sinderen, D. Fermented functional foods based on

probiotics and their biogenic metabolites. *Curr Opin Biotechnol*, 2005; 16(2), 198–203.

[21] Holzapfel, W. H.; Haberler, P.; Snel, J.; Schillinger, U.; Huisin’t Veld, J. H. J. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 1998; 41, 85–101.

[22] Shah, N. P.; Ravula, R. Selling the cells in desserts. *Dairy Industries International*, 2004; 69, 31–32.

[23] Vinderola, C. G.; Reinheimer, J. A. Lactic acid bacteria: A comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 2003; 36, 895–904.

[24] Talwalkar, A.; Kailasapathy, K. The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2004; 5, 1–8.

[25] Ventura, M.; Perozzi, G. Probiotic bacteria and human gut microbiota. *Genes & Nutrition*, 2011; 6, 203–204.

[26] Mättö, J.; Alakomi, H. L.; Vaari, A.; Virkajärvi, I.; Saarela, M. Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it. *International Dairy Journal*, 2006; 16, 1029–1037.

[27] Ross, R. P.; Desmond, C.; Fitzgerald, G. F.; Stanton, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of Applied Microbiology*, 2005; 98, 1410–1417.

[28] Lee, Y. K.; Salminen, S. *Handbook of probiotics and prebiotics* (2nd ed.), Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, Inc, 2009.

[29] Boylston, T. D.; Vinderola, C. G.; Ghoddusi, H. B.; Reinheimer, J.A. Incorporation of *Bifidobacteria* into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 2004; 14, 375–387.

[30] Karimi, R.; Mortazavian, A. M.; Cruz, A. G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. *Dairy Science & Technology*, 2011; 91, 283–308.

[31] Korbekandi, H.; Mortazavian, A. M.; Iravani, S. Technology and stability of probiotic in fermented milks. In N. Shah, A. G. Cruz, & J. A. F. Faria (Eds.), *Probiotic and prebiotic foods: Technology, stability and benefits to the human health*, New York: Nova Science Publishers, 2011; 131–169

[32] Gaudreau, H.; Champagne, C. P.; Remondetto, G. E.; Bazinet, L.; Subirade, M. Effect of catechins on the growth of oxygen-sensitive probiotic bacteria. *Food Research International*, 2013; 53, 751–757.

[33] Cruz, A. G.; Faria, J. A. F.; Van Dender, A. G. F. Packaging system and probiotic dairy foods. *Food Research International*, 2007; 40, 951–956.

[34] Akin, M. B.; Akin, M. S.; Kirmaci, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic icecream. *Food Chemistry*, 2007; 104(1), 93–99.

[35] Fowler, A.; Toner, M. Cryo-injury and biopreservation. *Annals of New York Academy of Sciences*, 2005; 1066, 119–135.

[36] Gill, C. O. Microbiology of frozen foods. In S. Da-Wen Boca (Ed.), *Handbook of frozen food processing and packaging*, Boca Raton, FL: CRC Press, 2006; 85–100,

[37] Mohammadi, R.; Mortazavian, A. M.; Khosrokhavar, R.; Cruz, A. G. Probiotic ice cream: Viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology*, 2011; 61, 411–424.

[38] Santivarangkna, C.; Kulozik, U.; Foerst, P. Effect of carbohydrates on the survival of *Lactobacillus helveticus* during vacuum drying. *Letters in Applied Microbiology*, 2006; 42, 271– 276.

[39] Nag, A.; Das, S. Improving ambient temperature stability of probiotics with stress adaptation and fluidized bed drying. *Journal of Functional Foods*, 2013; 5, 170–177.

[40] Ferreira, V.; Soares, V.; Santos, C.; Silva, J.; Gibbs, P. A.; Teixeira, P. Survival of *L. sakei* during heating, drying and storage in the dried state when growth has occurred in the presence of sucrose or monosodium glutamate. *Biotechnology Letters*, 2005; 27, 249–252.

[41] Hubalek, Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, 2003; 46, 205–229.

[42] Capela, P.; Hay, T. K. C.; Shah, N. P. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze dried yoghurt. *Food Research International*, 2006; 39(2), 203–211.

[43] Çakır, İ. Mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik gıda üretiminde kullanımı. *Bildiriler Kitabı*, pp. 693-696. Türkiye 9. Gıda Kongresi, , Bolu, Sim Matbaası, Ankara. 2006; 1012 s,

[44] Burgain, J. J.; Gaiani, C. C.; Linder, M. R.; Scher, J. J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 2011; 104(4), 467–483.

[45] Ying, D. Y.; Phoon, M. C.; Sanguansri, L.; Weerakkody, R.; Burgar, I.; Augustin, M. A. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties

to probiotic survival during storage. *Journal of Food Science*, 2010; 75(9), 588–595.

[46] Annan, N. T.; Borza, A. D.; Hansen, L. T. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Research International*, 2008; 41(2), 184–193.

[47] Heidebach, T.; Leeb, E.; Först, P.; Kulozik, U. Microencapsulation of probiotic cells. In *Colloids in biotechnology*, USA: CRC-Press/Taylor and Francis. ISBN: 9781439830802, 2010.

[48] Carvalho, A. S.; Silva, J.; Ho, P.; Teixeira, P.; Malcata, F. X.; Gibbs, P. Effects of various sugars added to growth and drying media upon thermotolerance and survival throughout storage of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. *Biotechnology Progress*, 2004; 20, 248–254.

[49] Panoff, J. M.; Thammavongs, B.; Gueguen, M. Cryoprotectants lead to phenotypic adaptation to freeze-thaw stress in *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* CIP 101027T. *Cryobiology*, 2000; 40, 264–269

[50] Wenrong, S.; Griffiths, M. W. Survival of *Bifidobacteria* in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, 2000; 61, 17–26.

[51] Lee, K. Y.; Heo, T. R. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salts solution. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000; 66, 869–873.

[52] Sunohara, H.; Ohno, T.; Shibata, N.; Seki, K. Process for producing capsule and capsule obtained thereby. US Patent 1995; 5: 478-570.

[53] Sultana, K.; Godward, G.; Reynolds, N.; Arumugaswamy, R.; Peiris, P.; Kailasapathy, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 2000; 62, 47–55.

[54] Gomes, A. M. P.; Malcata, F. X. *Bifidobacterium spp.* And *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 1999; 10, 139–145.

[55] Ding, W. K.; Shah, N. P. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *Journal of Food Science*, 2007; 72(9), 446–450.

[56] Avila-Reyesa, S. V.; Garcia-Suarez, F. J.; Jiménez, M. T.; Martín- Gonzalez, M. F. S.; Bello-Perez, L. A. Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate Polymers*, 2014; 102, 423–430.

[57] Vinderola, C. G.; Costa, G. A.; Regenhardt, S.; Reinheimer, J. A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 2002; 12, 579–589.

[58] Lucas, A.; Sodini, I.; Monnet, C.; Jolivet, P.; Corrieu, G. Probiotic cell counts and acidification in fermented milks supplemented with milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, 2004; 14, 47–53.

[59] Carvalho, A. S.; Silva, J.; Ho, P.; Teixeira, P.; Malcata, F. X.; Gibbs, P.. Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants. *Biotechnology Letters*, 2002; 24, 1587–1591.

[60] Öneby, K.; Pizzul, L.; Bjerketorp, J.; Mahlin, D.; Håkansson, S.; Wessman, P. Effects of di- and polysaccharide formulations and storage conditions on survival of freeze-dried *Sphingobium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013; 29(8), 1399–1408.

[61] Nobakhti, A. R.; Ehsani, M. R.; Mousavi, S. M.; Mortazavian, A. M. Influence of lactulose and Hi-maize addition on viability of probiotic microorganisms in freshly made synbiotic fermented milk drink. *Milchwissenschaft*, 2009; 64, 191–193.

[62] Rycroft, C. E.; Jones, M. R.; Gibson, G. R.; Rastall, R. A. A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 2001; 91, 878–887.

[63] Heydari, S.; Mortazavian, A. M.; Ehsani, M. R.; Mohammadifar, M. A.; Ezzatpanah, H. Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic compounds. *Italian Journal of Food Science*, 2011; 23, 153–163.

[64] De Vuyst, L. (Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 2000; 38, 105–112.

[65] Holzapfel, W. H.; Haberer, P.; Geisen, R.; Bjoerkroth, J.; Schillinger, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001; 73, 365–373.

[66] Kawasaki, S.; Mimura, T.; Satoh, T.; Takeda, K.; Niimura, Y. Response of the microaerophilic *Bifidobacterium* species, *B. boum* and *B. thermophilum*, to oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006; 72, 6854–6858.

[67] Talwalkar, A.; Kailasapathy, K. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2003; 3, 117–124.

[68] Roy, D. Technological aspects related to the use of *Bifidobacteria* in dairy products. *Le Lait*, 2005; 85, 39–56.

[69] Dave, R.I.; Shah, N. P. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 1997; 7, 435–443.

[70] Talwalkar, A.; Miller, C. W.; Kailasapathy, K.; Nguyen, M. H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology*, 2004; 39, 605–611.

[71] Zayed, G.; Roos, Y. H. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze drying and storage. *Process Biochemistry* (Barking, London, England), 2004; 39, 1081–1086.

[72] Weinbreck, F.; Bodnár, I.; Marco, M. L. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products? *International Journal of Food Microbiology*, 2010; 136, 364–367.

[73] Gardiner, G. E.; O’Sullivan, E.; Kelly, J.; Auty, M. A.; Fitzgerald, G. F.; Collins, J. K.; Ross, R. P.; Stanton, C. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000; 66, 2605–2612.

[74] Mortazavian, A. M.; Ehsani, M. R.; Mousavi, S. M.; Sohrabvandi, S.; Reinheimer, J. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganisms in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 2007a; 59, 123–127.

[75] Mortazavian, A. M.; Razavi, S. H.; Ehsani, M. R.; Sohrabvandi, S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2007b; 5, 1–18.

[76] Bruno, F. A.; Shah, N. P. Viability of two freeze-dried strains of *Bifidobacterium* and commercial preparations at various temperatures during prolonged storage. *Journal of Food Science*, 2003; 68, 2336–2339.

[77] Dunne, C.; O’Mahony, L.; Murphy, L.; Thornton, G.; Morrissey, D.; O’Halloran, S.; Feeney, M.; Flynn, S. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with in vivo findings. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001; 73, 386–392s.

[78] Sheehan, V. M.; Ross, P.; Fitzgerald, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007; 8, 279–284.

CBÜ Fen Bil. Dergi., Cilt 11, Sayı 2, 155-166 s

[79] Erkkila, S.; Suihko, M. L.; Eerola, S.; Petaja, E.; Mattila- Sandholm, T. Dry fermented sausages by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 2001; 64, 205–210.

[80] Jayamanne, V. S.; Adams, M. R. Survival of probiotic *Bifidobacteria* in buffalo curd and their effect on sensory properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 2004; 39, 719–725.

[81] Janson, S. E. A.; Gallet, G.; Heft, T.; Karlsson, S.; Gedde, U. W.; Hendenqvist, M. Packing materials for fermented milk, part 2: Solute-induced changes and effects of material polarity and thickness on food quality. *Packaging Technology and Science*, 2002; 15, 287–300.

[82] Miller, C. W.; Nguyen, M. H.; Rooney, M.; Kailasapthy, K. The influence of packaging materials

CBU J. of Sci., Volume 11, Issue 2, p 155-166

on the dissolved oxygen content of probiotic yogurt. *Packaging Technology and Science*, 2002; 15, 133–138.

[83] Miller, C. W.; Nguyen, M. H.; Rooney, M.; Kailasapthy, K. The control of dissolved oxygen content in probiotic yogurts by alternative packing materials. *Packaging Technology and Science*, 2003; 16, 61–67.

[84] Cruz, A. G.; Castro, W. F.; Faria, J. A. F.; Bolini, H. M. A.; Celeghini, R. M. S.; Raices, R. S. L.; Oliveira, C. A. F.; Freitas, M. Q.; Conte Júnior, C. A.; Mársico, E. T. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International*, 2013; 51, 723–728.