

BİFİDOBAKTERLER

KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİ, İNSAN SAĞLIĞINDAKİ ROLLERİ VE SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEKİ POTANSİYEL KULLANIMLARI

Hülya KAPTAN

Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsü TÜBİTAK-Marmara Araştırma Merkezi Gebze-Kocaeli

ÖZET: Bu derlemede, bifidobakterlerin karakteristik özellikleri, insan sağlığını koruyabilme ve geliştirebilme yetenekleri ve bu bakterilerin çeşitli süt ürünlerinde kullanımları sırasında karşılaşılan problemler özetlenmiştir.

ABSTRACT: In this review, characteristics of bifidobacteria, their ability to maintain and promote health, and the problems which are dealt with in their application to various dairy products are summarized.

GİRİŞ

1903 yılında "fagosit teorisi" ile nobel ödülü alan Rus biyolog Elie Metchnikoff, yaşlanmanın bağırsaklardaki bakterilerin neden olduğu kronik-pütrefaktif bir intoksikasyon olayı olduğunu ileri sürmüştü. Metchnikoff, günlük diyetlerinin düzenli bir parçası olarak yoğurt yiyen Bulgarlar'ın farkedilir derecede uzun ömürlü oldukları bulgusuna dayanarak laktik asit bakterilerinin ömrü uzattıkları yolundaki teorisini ortaya koymuştu. O günlerde, bağırsak sistemindeki zararlı bakterilerin sayısının, laktik asit bakterileri enjeksiyonu ile azaltılabileceği teorisi insanlarda bir duyarlılık yaratmış ve bunun bir sonucu olarak yoğurt tüm dünyada popüler bir besin durumuna gelmişti. Diğer taraftan, daha sonra yapılan çalışmalar insan sağlığı açısından yararlı olduğu ileri sürülen *Lactobacillus bulgaricus*'un sindirim sıvılarının ortamında canlılığını sürdürmediğini, dolayısıyla da bağırsaklara canlı olarak ulaşmadığını göstermiştir. Bu bulgunun bir sonucu olarak, daha önce ileri sürülen teoriler geçerliliğini kaybetmiş, fakat bu çelişkili durum konu üzerindeki çalışmaları teşvik etmiştir. Daha sonraki yıllarda süregelen araştırmaların bir sonucu olarak, insanın mide-bağırsak sistemindeki fizyolojik bariyerlere karşı dirençli laktik asit bakterileri tanımlanmış ve bunların konakçının bağırsak sistemindeki mikrobiyal floraaya olan etkileri ortaya konmuştur (HUGHES and HOOVER, 1991; İSHİBASHİ and SHİMAMURA, 1993).

"Laktik asit bakterisi" terimi fermentasyon sonucu glukoz ve laktoz gibi şekerlerden laktik asit üreten bakteriler için kullanılan genel bir terimdir. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, ve *Leuconostac* laktik asit bakterilerindendir. Bu bakteriler morfolojilerine ve laktik asit fermentasyonu şekillerine göre sınıflandırılmışlardır. Aslında Bifidobakterler, *Lactobacil*'ler ya da *Pediococcus*'larla karşılaştırıldıklarında gerçek laktik asit bakterileri değildirler. Çünkü bifidler alışıkan olunmayan bir glukoz metabolize sistemi yoluyla hem asetik asit hem de laktik asit üretirler ve bunun sonucunda ortaya birincil metabolitler olarak teoride 3:2 oranında asetat: laktat çıkar (SCARDOVİ and TRAVATELLİ, 1965). Bunun yanında, genellikle az miktarlarda formik asit ve etanol de üretirler (DE VRIES and STOUTAMER, 1968). Bu nedenle, bu mikroorganizmalar kalın bağırsağın pH'sını kontrol etmede, dolayısıyla da birçok potansiyel patojen ve pütatif bakteri türünün inhibasyonunda önemli rol oynarlar (MITSUOKA, 1982; HATA ve ark., 1982; RASIC, 1983). Ayrıca, bifidobakterilerin anti-kanserojenik ve anti-kolesterolemik aktiviteleri olduğu yolunda da bulgular vardır.

Bu derlemede, Bifidobakter türünün karakteristik özellikleri, insan sindirim sisteminin mikrobiyal ekolojisindeki rolleri, canlı bifidobakter içeren yiyecek ve içeceklerin tedavi edici ve sağlığı koruyucu özellikleri, ve bu bakterilerin çeşitli ürünlerdeki potansiyel uygulamaları anlatılacaktır.

Bifidobakterler'in Karakteristik Özellikleri

Bifidobakterler ilk olarak 1899'da Pasteur Enstitüsü'nden Henry Tissier tarafından keşfedilmiş ve *Bacillus bifidus communis* olarak isimlendirilmişlerdir. Başlangıçta bu bakterilerin bebeklerin bağırsak florasının baskın elemanı olduğu düşünülmüşse de, sonraki çalışmalar bifidobakterlerin erişkin insanlarda ve sıcak-kanlı hayvanlarda da bulunduğunu ortaya koymuştur (HUGES and HOOVER, 1991; İSHİBASHİ and SHİMAMURA, 1993).

İnsanlarda bulunan Bifidobakter türleri *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum* ve *B. pseudocatenulatum* olarak sıralanabilir. Bifidobakterlerin diğer türleri çeşitli hayvanların ve arılar da dahil olmak üzere çeşitli böceklerin bağırsak sisteminde bulunurlar (SCARDAVİ, 1981). Bu türlerin morfolojik ve fizyolojik özellikleri bir dereceye kadar farklılık gösterse de, hepsi hareketsiz, sporlanmayan, kataliz-negatif, bazen bifid ama genellikle çubuk şeklinde Gram(+) bakterilerdir. Glukozu, kendilerine has bir yolla asetat ve laktata fermente etmeleri açısından heterofermentatiftirler. Bu yüzden, bu özel mekanizmanın bir enzimi, fruktoz-6-fosfat fosfoketolaz (F6PKK), rutin olarak bifidobakterlerin diğer mikroorganizmalardan ayırt edilmesinde kullanılır (SCARDOVİ and TROVATELLİ, 1965; SCARDOVİ, 1986).

Anaerob kabul edilmelerine rağmen, bifidobakterler oksijen toleransları bakımından oldukça farklılık gösterirler. Bazıları zorunlu anaerob iken diğerleri mikroaerofiliktirler (CO₂ gazı bulunan ortamda çok düşük oksijen konsantrasyonlarına tolere edebilirler) (RASİC and KURMANN, 1983). Bifidobakterler için optimum büyüme sıcaklığı ve pH değerleri sırasıyla 37-43°C ve 6.5-7.0 pH arasındadır. Nadiren 25-28°C ve 43-45°C aralıklarında da büyüyebilirler. Ortam pH'sının 4.5-5.0'den düşük olduğu ve 8.0-8.5'den yüksek olduğu durumlarda çok az büyüme gösterirler ya da hiç büyümeyiz (SCARDOVİ, 1986).

Bifidobakterler karbon kaynağı olarak karbonat veya bikarbonata (ya da CO₂ gazına) ihtiyaç duyarlar. Organik asitler, yağ asitleri ve amino asitler etkin karbon kaynakları değildir. Yalnızca sistein ve sistin zorunlu azot kaynaklarıdır (HASSİNEN ve ark., 1951). Bunun yanında, bifidobakterler "bifidojenik faktörler" olarak bilinen belirli büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bu maddeler, genelde N-asetilglukozamine gibi amino şekerleri veya fruktooligosakkaritler ve laktuloz gibi karbonhidratlardır (HİDAKA ve ark., 1986; MİZOTA ve ark., 1987). Bifidobakterlerin insan ve hayvanlara fayda sağlayabilmeleri, alt sindirim yolunda aktif olmalarıyla mümkündür. Bu bakterilerin laktik ve asetik asit üretimleri, bağırsaklara sindirim sisteminde metabolize edilmeden ulaşan karbonhidratlara bağlıdır. Bu nedenle bifidojenik faktörler olarak adlandırılan karbonhidratlar bifidobakterlerin büyümesini desteklemek amacıyla insan beslenmesinde katkı olarak kullanılırlar.

Tedavi Edici Etkileri

Metchnikoff'un "yaşlanmadan uzun ömürlülük" teorisinde savunduğu gibi (METCHNIKOFF, 1908), Tissier de bifidobakterlerin bağırsak sisteminin baskın mikroorganizmaları haline gelirken, mide rahatsızlıklarına yol açan pütatif bakterilerin yerini aldığına inanıyordu (TISSIER, 1906). Bu nedenle Tissier, bağırsak hastalıklarının tedavisinde bifidobakterlerin kullanımını teşvik etmiştir.

Bifidobakter katkılı ürünlerin tüketiminin beslenme ve sağlık açısından sağladığı muhtemel yararlar beş madde ile özetlenebilir; (i) bağırsak mikroflorasının normal dengesinin korunması (patojenlere karşı koruma, çeşitli rahatsızlıklar üzerine klinik etkileri), (ii) Belirli besin öğelerinin sentezi, (iii) anti-kanserojenik aktivite, (iv) laktoz toleransının artırılması, (v) serum-kolesterol seviyesinin düşürülmesi.

i. Bağırsak mikroflorasının normal dengesinin korunması

Bifidobakterlerin, genel olarak bilinen pek çok gıda kaynaklı patojen mikroorganizmayı inhibe ettiği görülmüştür. Bunlar arasında *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Camphylobacter jejuni*, *E.coli* ve *S. typhimurium* sayılabilir (ANOND ve ark., 1985; TOJO ve ark., 1987; TOMODA ve ark., 1988). Laktik asit bakterilerinin insanlardaki antimikrobiyal aktivitelerinin bir nedeni, bu organizmaların organik asit üretimi yoluyla bağırsaklardaki pH'yi düşürmeleridir (BULEN ve ark., 1976). Bifidobakterlerin laktoz fermentasyonu sonucu ürettikleri organik asitler, özellikle asetik asit, G(-) bakterilere karşı laktik asitten daha etkilidir. Bu nedenle, bazı durumlarda bifidobakterler G(-) bakterileri inhibe etmede diğer laktik asit bakterilerine göre daha üstündürler. Bağırsak pH'sının kontrolü antimikrobiyal etkisinin yanında, karaciğer fonksiyon

bozuklukların ishal ve kabızlıkla ilgili birtakım iç hastalıklara ve dolaşım sistemi bozukluklarına neden olabilen fenoller, amonyak, steroidler, bakteriyel toksinler (MITSUOKA, 1982) ve damar sıkışmasına yol açan histamin ve tiramin gibi aminlerin üretimini de kısıtlar (HİDAKA and EIDA, 1988) ve tirozin ve triptofan gibi aromatik amino asitlerin parçalanmasını etkiler (MITSUOKA, 1984). Amonyak ve sırasıyla tirozin ve triptofanın birer parçalanma ürünü olan fenol ve indol normalde karaciğerde glukuronik ve sülfirik asit gibi asitlerle detoksifiye edilir ve idrarla dışarı atılırlar (HİDAKA ve ark., 1986). Eğer karaciğer fonksiyonu bozursa, amonyak seviyesi yükselir ve sinir impulslarına zarar verir. Bifidobakterler, amonyak üretimini üre-parçalayıcı mikroorganizmaları inhibe ederek bastırırlar ve bu nedenle post-systemic encephalopathy (azotlu toksik bileşiklerin kan dolaşımı sistemine geçmesine bağlanan ve komaya neden olabilen sirozla ilgili bir beyin hastalığı) tedavisinde klinik olarak kullanılabilirler (MODLER ve ark., 1990).

Anti-mikrobiyal aktiviteleri ve pH-kontrol yetenekleri nedeniyle bifidobakterler çok ciddi sonuçlar doğurabilecek anormal yetişkin mikroflorasını düzeltebilme yeterliliğine sahiptirler. Bu mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitelerinin bir nedeni de ortamdaki demiri etkin bir şekilde bağlayarak patojenler için kullanılamaz duruma getirmeleridir (BEZKOROVAINY and SOLBERG, 1989). Bifidobakterlerin pH'sı 5.0-6.5 olan oksijenli bir ortamda Fe^{+2} 'yi ortamdan alıp, hücre içi pütatif feroksidaz enzimi ile kısmen $Fe(OH)_3$ 'e okside ettiği görülmüştür (KOT ve ark., 1994; BEZKOROVAINY ve ark., 1996). Bu Fe^{+2} transferi genellikle transferin ve laktoferin gibi demir-bağlayıcı proteinlerle gerçekleştirilir ve bu yüzden bu olay 'beslenme yoluyla bağışıklık' anlamına gelen 'nutritional immunity' olarak tanımlanır (BEZKOROVAINY, 1980; WEINBERG, 1996). Bu tür demir transferi fermente veya katkılı süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu mide-bağırsak yolunda ya da bu tür gıdaların depolanması ve işlenmesi sırasında gerçekleşebilir (Kot ve ark., 1995).

ii. Belirli besin öğelerinin sentezi

Bifidobakterlerin, kalın bağırsakta tiamin, ribaflavin, B6 ve K vitaminlerini sentezlediği ve bu vitaminlerin daha sonra insan vücudu tarafından absorbe edildiği bilinmektedir (RASİC and KURMAN, 1983; TERAGUCHI VE ark., 1984; DEGUCHI ve ark., 1985). Yapılan araştırmalar sonucunda, özellikle *B. longum*'un önemli miktarlarda B₂ ve B₆ vitaminlerini sentezlediği görülmüştür. MUTAI (1978), bifidus ürünlerinin iyi bir B-kompleks vitamini kaynağı olduğunu, çünkü bifidobakterlerin 120.3 µg/100 mL'ye varan miktarlarda B vitamini sentezleyip hücre dışına transfer ettiğini kaydetmiştir.

MATTEUZZI ve ark. (1978), bifidobakterlerin metabolizma tarafından absorbe edilmek üzere bağırsaklarda amino asit sentezleyebildiklerini belirtmişlerdir. Buna ilaveten, bu bakterilerin fermente süt ürünlerinin asidifikasyonu ve hafif proteolitik aktivitelerinin sonucu vücudun absorbe ettiği kalsiyum miktarını artırırken sindirimi güçlendirdiği görülmüştür (RASİC, 1989).

iii. Anti-kanserjenik aktivite

Bifidobakterlerin anti-kanserojenik aktivitelerinin olduğu kanısı gün geçtikçe güçlenmektedir. Bu tür bir aktivite ya kanserin başlamasının doğrudan veya kanserojen maddelere dönüşebilen pro-kanserojenlerin uzaklaştırılmasıyla dolaylı bir şekilde önlenmesi; ya da başlamış olan kanserin, bağışıklık sisteminin aktivasyonu yoluyla bastırılması şeklinde mümkündür (FERNANDES and SHAHANİ, 1990).

Sosis ve salam gibi çeşitli gıdaların tüketimi yoluyla vücuda alınan nitritler, ve mide-bağırsak sistemindeki safra asitleri pro-kanserojenlere örnek verilebilir. Çünkü, bu maddeler bağırsak mikroflorasının metabolizması sonucu nitrozaminler ve safra asidi türevleri gibi kanserojen maddelere dönüşebilirler. Bifidobakterler bu tür pro-kanserojenik maddeleri hücre içine alarak bunların kanserojen maddelere dönüştürmelerini önler ve böylece tümör oluşumu riskini oldukça düşürür (MITSUOKA, 1989; HOSONO ve ark., 1990). Azoreduktaz, β-glukuronidaz ve nitroreduktaz gibi pro-kanserojenleri kanserojen maddelere dönüştüren bakteriyel enzimler 'pro-kanserojenik enzimler' olarak adlandırılır (GOLDİN and GOLBRACH, 1983). Bu enzimlerin vücutta yüksek seviyelerde bulunması kanser oluşumu riskini artırır. Tavşanlarda yapılan çalışmalar bifidobakterlerin bu enzimlerin aktivitelerini önlediğini göstermiştir (MITSUOKA, 1989; FERNANDES and SHAHANİ, 1990).

Canlı bifidobakter hücreleri veya hücre parçalarının, vücudun bağışıklık sistemini aktive ederek tümörleri bastırmada etkili olduğu gözlenmiştir. *B. infantis*'in hücre duvarı parçalarının aktif anti-tümör yapılarına sahip ol-

duğu bilinmektedir (SEKİNE ve ark., 1985; TSUYUKİ ve ark., 1991; BOL, 1984). Yapılan araştırmaların sonuçları, bu hücre duvarı parçalarının tümörlü bölgeye enjeksiyonunun bağışıklık sistemini harekete geçirerek tümörün büyümesini önlediğini göstermiştir (TOİDA ve ark., 1990). SASAKİ ve ark. (1987), *B. thermophilum*'da bulunan muramil dipeptidazın, domuzun *E.coli*'ye karşı bağışıklığını güçlendirdiğini bulmuşlardır.

iv. Laktoz-toleransının artırılması

İnce bağırsağındaki laktaz (β -galaktosidaz) aktivitesi düşük olan insanlar laktozu sindiremezler. Bu nedenle, bu kişilerin taze ve fermente olmayan süt ürünlerini tüketmeleri, kalın bağırsak mikroflorasının laktoz fermentasyonu sonucu oluşturdukları hidrojen, metan ve CO₂ gazları nedeniyle mide ağrılarına yol açar (HUGES and HOOVER, 1995; JİANG ve ark., 1996). Bu tür hastalar, kültür katkılı fermente olmayan sütü ve yoğurt gibi fermente gıdaları taze süte göre daha rahat sindirirler (KİLARA and SHAHANİ, 1976; KOLARS and LEVİTT, 1984; LİN ve ark., 1991). Bunun nedeni, kültür katkılı ürünlerin sindirimi sırasında ortaya çıkan bakteriyel β -galaktosidaz enzimi ile laktozun bağırsak içinde oto-sidime uğramasıdır (SAVAİNO and LEVİTT, 1985).

v. Serum-kolesterol seviyesinin düşürülmesi

Serum-kolesterol seviyesindeki artış kalp-damar hastalıklarıyla çok yakından ilgilidir. Bifidobakter veya *L. acidophilus* katkılı süt ürünlerinin tüketiminin kolesterol seviyesini kontrol etmede yardımcı olabileceği düşünülmektedir (MANN and SPOERRY, 1974). Çünkü deneyler, bifidobakterler de dahil olmak üzere laktik asit bakterilerinin hidroksimetil-glutaril-CoA reduktaz enzimini inhibe ettiğini ve böylece kolesterol sentezini de önlediğini göstermiştir (HAMMA, 1988).

Bifidobakterlerin Gıdalarda Kullanımları

Tüketiciler her geçen gün bifidobakter-katkılı gıda ürünlerinin tüketiminin sağladığı yararları farketmekte ve bu yüzden bu tür ürünler gün geçtikçe artan bir popülarite kazanmaktadır. Bifid-katkılı fermente ürünler Japonya ve Avrupa'da oldukça yaygındır. Bu iki bölgedeki kadar rağbet görmese de Kanada, Brezilya ve ABD'de de üretilmektedir (HUGHES and HOOVER, 1991). Bu tür ürünlerinin Kuzey Amerika'da diğer bölgelerde olduğu gibi hızlı bir şekilde ticarileşememiş olmasının başlıca iki nedeni olduğu belirtilmektedir: Birincisi tüketicilerin bu bakterilerin yararlı etkileri konusunda hala şüpheli olmaları; ikincisi de bakteri kültürlerinin endüstriyel ölçekte çoğaltılabilmelerinin zorluğudur.

Gıda ürünlerinde kullanılabilecek Bifidobakter türleri için birtakım kriterler belirlenmiştir. Bunlar řu şekilde sıralanabilir:

- yaklaşık olarak 3:2 oranında asetik asit ve laktik asit üretmeleri, ve 38°C'de 4-8 saatte süütün pH'sını 4.7'ye düşürebilmeleri (%10'luk bir inokulasyon için) (KURMANN, 1983),
- fruktoz-6-fosfat fosfoketolaz enzimine sahip olmaları (EC 4.1.2.22; SCARDOVİ, 1986),
- katalaz, nitrat reduktaz, ureaz, glukozdan gaz oluşturma, indol formasyonu, jelatinin sıvılaştırılması ve ramnoz ve sorboz, gliserol, eritritol, aldonitol ve dulsitole tepki testlerine negatif sonuç vermeleri (MİTSUOKA, 1984),
- asit, antibiyotik ve safra sıvılarına karşı yeterli derecede dirençli olmaları, ve O₂'e tolere edebilmeleri.

Ticari ürünlerde bifidobakterlerin etkin bir şekilde kullanımını zorlaştıran en önemli problem, ürün tüketilinceye kadar kültürün canlılığının korunmasıdır. Etkin bir kullanım için 10⁶ organizma/mL'den fazla bir hücre yüküne ihtiyaç vardır (DRİESSEN and DEBOER, 1989). Ancak, asit toleranslarının olmaması ve oksijene karşı çok hassas olmaları nedeniyle bifidleri çoğaltmak oldukça zordur. Bu nedenle, sözedilen konsantrasyonlara ulaşabilmek için organizmanın asit ve O₂'e karşı duyarlılığını minimuma indirmek gerekir (RASİC and KURMANN, 1983). Bunun bir yolu çeşitli firmaların üzerinde durduğu gibi kültür seleksiyonu ve geliştirmesi yapmak, diğer bir yolu ise kaplama (YOKOTA ve ark., 1990) ve mikroenkapsülasyon (RAO ve ark., 1989) yöntemleri ile hücrelerin korunmasıdır.

Oksijen toleransı suştan suşa farklılıklar gösterir. Ortamdan oksijeni uzaklaştırmak oldukça pahalı özel ekipmanlar gerektirir (Ishibashi and Seichi, 1993). Bu nedenle fermentasyon maliyetini düşük tutabilmek için, endüstriyel amaçla kullanılacak kültürler O₂ toleransı yüksek olanlar arasından seçilir. Oksijen sorununu çözmek için önerilen bir başka yolda oksijen çöppüsü olan *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* gibi bakterilerin kullanılması

sıdır (OKONOGİ ve ark., 1986; SHİGEN ve ark., 1984). Oksijen sadece üretim aşamasında değil, depolama süresince de problem olduğu için, ürünlerin paketlenmesinde O₂ geçirgenliği çok düşük olan cam, alüminyum, PVDC veya ETOH lamine ya da kaplama türü malzemelerin kullanılması önemlidir (İSHİBASHİ and SEİİCHİ, 1993).

Özellikle fermente ürün üreticilerini ilgilendiren ürün pH'sı bifidlerin üründeki canlılığını etkileyen bir diğer önemli faktördür. Mikroenkapsülasyon teknolojisindeki gelişmeler asit hassasiyeti olan bifidobakterler için bir korma sağlayabilir ve böylece özellikle yoğurtta ve tüketildikten sonra mideden geçme aşamasında canlı kalan hücre sayısını artırmada önemli ölçüde yardımcı olabilir. Kaplama amacıyla kullanılacak jelatin, terayağı, dekstrin, modifiye nişasta ve sebze gamları gibi maddeler spray kurutma, ekstruzyon ve hâva-süspansiyon kaplama tekniği gibi çeşitli yöntemlerle uygulanabilir (Dziezak, 1988).

1980'lerde, bifidobakterlerin çeşitli ticari suşlarında çoklu plazmidlerin bulunması ile bu bakterilerin özelliklerinin genetik yöntemlerle geliştirilmesine yönelik yeni bir kapı açılmıştır. Bu, asit ve oksijene toleranslı genetik olarak değişime uğramış ticari türlerin elde edilmesini sağlayabilir (SGARBATİ ve ark., 1982; IWATA and MORİSHİTA, 1989; MATTEUZZİ ve ark., 1990).

Bugün bütün dünyada, büyük çoğunluğu yoğurt ve süt tozu gibi süt ürünleri olan 70 çeşitten fazla bifid katkılı ürün üretilmektedir. Bu tür ürünler Japonya'da çok popülerdir ve Japonya'nın toplam yoğurt üretiminin 1/3'ünü bifid-katkılı yoğurtlar oluşturmaktadır (KATAOKE, 1990). Bu konuda çalışan büyük şirketlerden biri olan Yakult tarafından üretilen ve gramında 106 bifid içeren 'Mil-MilTM1', Japonya'da "akıllılık yoğurt" olarak pazarlanmaktadır. Almanya'da 'BiogradeTM1', Danimarka'da 'CulturaTM bifit-katkılı gıda olarak pazarlanan ürünlere verilebilecek örneklerdir. ABD'de Mayfield, 1987'den beri %1 acidophilus/bifidobakter katkılı az yağlı bir ürün üretmektedir. Örneklerden de anlaşılacağı gibi bifid-katkılı ürünlerin dünya pazarında yer almasının karşısında önemli bir engel yoktur ve sorun sadece zaman sorunudur. Çünkü, her yenilikte olduğu gibi bunda da tüketicilerin bu ürünlerin güvenilirliğine inanıp günlük beslenmelerinin bir parçası olarak tüketmeye başlaması için zamana ihtiyaç vardır.

REFERANSLAR

- ANAND, S.K., SRINIVASAN, R.A. and RAO, L.K. 1985. Antibacterial activity associated with Bifidobacterium bifidum. *Cultured Dairy Products* 6.
- BEZKOROVAINY, A. 1980. Antimicrobial properties of iron-binding proteins. *Diet and Resistance to Disease* 135: 139.
- BEZKOROVAINY, A. and SOLBERG, L. 1989. Ferrous iron uptake by Bifidobacterium breve. *Biol. Trace Elem. Res.* 20:251.
- BEZKOROVAINY, A., KOT, E., CATCHPOLE, R., HALOFTIS, G., FURMANOV, S. 1996. Iron metabolism in bifidobacteria. *Int. Dairy Journal* 6: 905.
- BOL, J. 1984. The function of lactobacilli as dietary adjuncts. *Antoine Van Leeuwenhoek*, 50:193.
- BULLEN, C.L. and TEARLE, P.V. 1976. Bifidobacteria in the intestinal tract of infants: an in-vitro study. *J. Med. Microbiol.* 9:355.
- De VRIES, W. and STOUTHAMER, A.H. 1968. Fermentation of glucose, lactose, galactose, mannitol and xylose by bifidobacteria. *J. Bacteriol.* 96: 472.
- DEGUCHI, Y., MORISHITA, T. and MUTAI, M. 1985. Comparative studies on synthesis of water-soluble vitamins among human species of bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.* 49 (1): 13.
- DRIESEN, F. M. and DeBOER, R. 1989. Fermented milks with selected intestinal bacteria: A healthy trend in new products. *Neth. Milk Dairy J.* 43: 367.
- DZIEZAK, J.D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technol.* 42: 136.
- FERNANDES, C. F. and SHAHANI, K.M. 1990. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. *J. of Food Prot.* 53: 704.
- GOLDİN, B.R. and GORBACH, S.L. 1983. The effect of oral administration of Lactobacillus and antibiotics on intestinal bacterial activity and chemical induction of large bowel tumors. *Dev. Ind. Microbiol.* 25: 139.
- HASSINEN, J.B., DURBIN, J.T., TOMARELLI, R. M. and BERNHART, F.W. 1951. The minimal nutritional requirements of Lactobacillus bifidus. *J. Bacteriol.* 62: 771.
- HATA, N., TAKEDA, U. and NIIZATO, T. 1982. Effect of Neosugar on the lipid metabolism of rats. *Proc. 1 St Neosugar Conf.* p. 63, Tokyo, Japan, 1982.
- HIDAKA, H. and EIDA, T. 1988. Roles of fructooligosaccharides for the improvements of intestinal flora and suppression of production of putrid substances. *Shokuhin-Kogyo (Food Engineering)* 31: 52.
- HIDAKA, H., EIDA, T., TAKIZAWA, T., TOKUNAGA, T. AND TASHIRO, Y. 1986. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora* 5: 37.

- HOMMA, N. 1988. Bifidobacteria as a resistance factor in human beings. *Bifidobacteria Microflora* 7(1): 35.
- HOSONO, A., WARDOJO, R. and OTANI, H. 1990. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric. Biol. Chem.* 54(7): 1639.
- HUGES, D.B. and HOOVER, D.G. 1991. Bifidobacteria: Their potential use in American dairy products. *Food Technol.* April: 74.
- HUGES, D.B. and HOOVER, D.G. 1995. Viability and enzyme activity of bifidobacteria in milk. *J. Dairy Sci.* 78:268.
- ISHIBASHI, N. and SHIMAMURA, S. 1993. Bifidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technol.* June: 126.
- IWATA, M. and MORISHITA, T. 1989. The presence of plasmids in *Bifidobacterium breve*. *Lett. Appl. Microbiol.* 9: 165.
- JIANG, T., MUSTAPHA, A. and SAVAIANO, D.A. 1996. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *J. Dairy Sci.* 79: 750.
- KATOKA, N. 1990. Personal communication. Morinaga Milk Industry Co., Ltd., Tokyo Japan.
- KOT, E., HALOFTIS, G. and BEZKOROVAINY, A. 1994. Iron accumulation by bifidobacteria at low pO₂ and in air: action of a putative ferroxidase. *J. Agric. Food Chem.* 42: 685.
- KURMANN, J.A. 1983. The development and significance of new cultures with bifidobacteria as an example. *N. Eur. Dairy J.* 48: 65.
- MANN, G. V., and SPOERRY, A. 1974. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *Amer. J. Clin. Nutr.* 27: 464.
- MATTEUZZI, D., CROCIANI, F. and EMALDI, O. 1978. Amino acids produced by bifidobacteria and some clostridia. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur.)* 129B: 175.
- METCHNIKOFF, E. 1908. "The Prolongation of Life" 1st ed. Putmans Sons, New York.
- MITSUOKA, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1: 3.
- MITSUOKA, T. 1984. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* 3: 11.
- MITSUOKA, T. 1989. A profile of intestinal bacteria. Yakult Honsha Co., Ltd., Tokyo
- MIZOTA, T., TAMURA, Y., TOMITA, M. and OKONOGLI, S. 1987. Lactulose as a sugar with physiological significance. *Int. Dairy Fed. Bull. Doc.* 212.
- MODLER, H.W., McKELLAR, R.C. and YAGUCHI, M. 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 23(1): 29.
- MUTAI, M. 1978. Characteristics of 'Mil-Mil'a *Bifidobacterium* fermented milk. *New Food Industry* 20(8): 17.
- OKONOGLI, S., KAWASHIMA, T., KUDO, T., YUGUCHI, Y., HIRAMATSU, H., TERAGUCHI, S. and YAESHIMA, T. 1986. Culture containing a viable cell mass of bifidobacteria and lactic acid bacteria. U.S. Patent 4, 588, 595.
- RAO, A.V., SHIWANARAIN, N. and MAHARAJ, I. 1989. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. *Can. Inst. Food Sci. Technol.* 22(4): 345.
- RASIC, J. 1983. The role of dairy foods containing bifido- and acidophilus bacteria in nutrition and health. *N. Eur. Dairy J.* 48:80,
- RASIC, J. 1989. The role dairy foods containing bifidobacteria and acidophilus bacteria in nutrition and health. In "Fermented Milks: Current Research." Association International des Fabricants de Yoghurts, Paris, France.
- RASIC, J. and KURMANN, J. A. 1983. Bifidobacteria and their role. Birkhauser Verlag, Basel.
- SASAKI, T., MAEDE, Y. and NAMIOKA, S. 1987. Immunopotential of the mucosa of the small intestine of weaning piglets by peptidoglycan. *Jpn. J. Vet. Sci.* 49:235.
- SAVAIANO, D. A. and LEVITT, M. D. 1985. Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* 70:397.
- SCARDOVI, V. 1981. The genus *Bifidobacterium*. In: *A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria*. M. P. Starr, H. Stolp, H.G. Turper, A. Balows, and H.G. Schlegel. (Eds.) p. 1951. Springer-Verlag Publishers, New York.
- SCARDOVI, V. 1986. *Bifidobacterium*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th Ed. Vol. 2, P.H. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt, (Eds.) p. 1418. Williams and Wilkins Publishers, Baltimore, MD.
- SCARDOVI, V. and TROVATELLI, L. D. 1965. The fructose-6-phosphate shunt as peculiar pattern of hexose degradation in the genus *Bifidobacterium*. *Annali di Microbiologia* 15:19.
- SEKINE, K., TOIDA T., SAITO, M., KUBOYAMA, M., KAWASHIMA, T. and HASHIMOTA, Y. 1985. A new morphologically characterized cell wall preparation (whole peptidoglycan) from *Bifidobacterium infantis* with a higher efficacy on the regression of an established tumor in mice. *Cancer Research* 45: 1300.
- SGORBATI, B., SCARDOVI, V. and LEBLANC, D.J. 1982. Plasmids in the genus *Bifidobacterium*. *J. Gen. Microbiol.* 128: 2121.
- SHIGEO, O., KAWASHIMA, T., KUDO, T., YUGUCHI, H., HIRAMATSU, A., TERAGUCHI, S. and YAESHIMA, T. 1984. A culture containing viable cell mass of bifidobacteria and lactic acid bacteria and a process for preparing said culture. *Eur. Patent Appl.* 011392.
- TERAGUCHI, S., ONO, J., KIYOSAWA, I., FUKUWATARI, Y., ARAKI, K. and OKONOGLI, S. 1984. Vitamin production of bifidobacteria originating from human intestine. *J. Jpn. Soc. Nutrition and Food Sci.* 37 (2): 157.

- TISSIER, H. 1906. *Researches sur la flore intestinale des nourrissons (Etat normal et pathologique)*. Thesis. University of Paris. Ed. Georges Carre'et. Naud, Paris, France. Cited in Rasic, J. and Kurmann, J. (1983), "Bifidobacteria and Their Role," Birkhauser Verlag Basel, Basel, Switzerland.
- TOIDA, T., SEKINE, K., TATSUKI, T., SAITO, M., KAWASHIMA, T., HASHIMOTO, Y. and SAKURAI, Y. 1990. Biochemical characterization and antitumor activity of a new cell wall preparation, whole peptidoglycan (WPG) from *Bifidobacterium infantis*. *J. Can. Res. Clin. Oncol.* 116: 342.
- TOJO, M., OIKAWA, T., MORIKAWA, Y., YAMASHITA, N., IWATA, S., SATOH, Y., HANADA, J. and TANAKA, R. 1987. The effects of *Bifidobacterium breve* administration on *Camphylobacter enteritis*. *Acta Paediatr. Jpn.* 29: 160.
- TOMODA, T., YASUA, N. and KAGEYAMA, T. 1988. Intestinal *Candida* infection in patients with leukemia: Effect of *Bifidobacterium* administration. *Bifidobacteria Microflora* 7(2): 71.
- TSUYUKI, S., YAMAZAKI, S., AKASHIBA, H., KAMIMURA, H., SEKINE, K., TOIDA, T., SAITO, M., KAWASHIMA, T. and UEDA, K. 1991. Tumor-suppressive effect of a cell wall preparation, WPG, from *Bifidobacterium infantis* in germfree and flora-bearing mice. *Bifidobacteria Microflora* 10:43.
- WEINBERG, E. 1986. Iron, infection and neoplasia. *Clin. Physiol. Biochem.* 4: 50.
- YOKOTA, T., SATO, T., UEMITSU, N. and KITABATAKE, K. 1990. Development of enteric coated tablets containing lactic acid bacteria. In "Abstracts of the International Bifidobacterium Conference." Japan Bifidus Foundation, Tokyo, Japan.