



Derleme Makale/Review Paper

Glikoz Oksidaz Enzimi Mekanizması ve Süt Ürünlerinde Probiyotik Bakterilerin Gelişimi Üzerine Etkisi

The Mechanism of Glucose Oxidase Enzyme and Its Effect on the Growth of Probiotic Bacteria in Dairy Products

Hatice Şeyma Altınkaynak¹, Tülay Özcan^{2*}

¹Yüksek Lisans Öğrencisi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, BURSA, TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0002-3231-005X

²Prof. Dr., Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, BURSA, TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0002-0223-3807

*:Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author: tulayozcan@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi:21.04.2021

Kabul Tarihi:02.08.2021

Özet

Amaç: Probiyotik bakterilerin gelişimi için uygun ortama sahip fonksiyonel süt ürünleri düzenli olarak tüketildiğinde bağırsak mikrobiyotası ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Probiyotik ürünlerin sağlığı geliştirici faydaları raf ömrü süresince bakteri canlılığının belli sayıda korunması ile sağlanmaktadır. Bu sebeple, gıdanın fonksiyonel özellikleri geliştirilirken aynı zamanda canlı mikroorganizmaların varlığının da sürdürülebilmesi için glikoz oksidaz enzimi ilavesi teknolojik olarak uygulanan yöntemlerden birisidir. Bu derlemede, glikoz oksidaz enzimi mekanizmasının, gıdalarda uygulamaları, fonksiyonel süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin gelişimi ve aktivitesinin korunması üzerine etkileri açıklanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Enzim, Glikoz Oksidaz, Probiyotik Bakteri, Süt Ürünü

Abstract

Objective: Functional dairy products which have proper environment for growth of probiotic bacteria, show positive effects on intestinal microbiota and immune system with their regular consumption. The health-promoting benefits of probiotic products are provided by preserving a certain number of bacterial viability during shelf life. For this reason, the addition of glucose oxidase enzyme is one of the technologically applied methods in order to maintain the existence of living microorganisms while improving the functional properties of the food. In this review, the mechanism of glucose oxidase enzyme, its applications on foods, effects on the growth and preservation of activity of probiotic bacteria in functional dairy products are explained.

Keywords: Enzyme, Glucose Oxidase, Probiotic Bacteria, Dairy Products

1. Giriş

Süt endüstrisinde giderek artan enzim kullanımının; süt ürünlerinde bozulmayı önleyerek raf ömrünü uzatma, istenilen aroma ve tat oluşumunu sağlama, olgunlaşmaya yardımcı olma, laktozu azaltılmış süt ve ürünlerini üretme ve ayrıca insan sağlığına faydalı olduğu bilinen probiyotik suşların gelişimi için süt ürününü daha uygun bir substrat haline getirme gibi faydalarının olduğu bilinmektedir (Dahm, 2006).

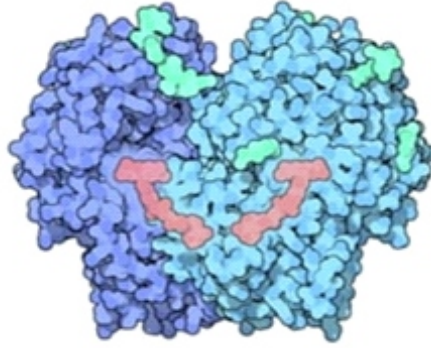
Son yıllarda kullanımı yaygınlaşan enzim uygulamalarından birisi de glikoz oksidaz

reaksiyonlarıdır. Süt ürünlerinde fonksiyonel özellikler geliştirilirken aynı zamanda canlı mikroorganizmaların ve probiyotik bakterilerin canlılığının sürdürülebilmesi için glikoz oksidaz enzim ilavesi, endüstride alternatif bir seçenek olarak kullanılmaktadır (Cruz vd., 2012a; Cruz vd., 2013). Glikoz oksidaz (EC 1.1.3.4); *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi küfler tarafından hücre içi ve hücre dışı olarak üretilen, glikoz ve oksijenden glukonik asit ve hidrojen peroksit oluşumunu katalize eden bir enzimdir (Leskovac vd., 2005). Glikoz oksidaz, ilk

zamanlarda mayonez benzeri ürünlerde lipit oksidasyonunu geciktirmek ve istenmeyen tat oluşumunu engellemek için uygulama alanı bulmuştur (Isaksen ve Adler-Nissen, 1997; Cruz vd., 2010a). Ayrıca, meyve püreleri, meyve suyu ve meyve konservelerinde enzimatik esmerleşmenin kontrolü (Parpinello vd., 2002), üzüm suyunda renk stabilizasyonu (Castellari vd., 2000), bira gibi içeceklerde alkol oranının ayarlanması ve fermente süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin gelişiminin aktivite edilmesi için (Cruz vd., 2010a; Cruz vd., 2011; Cruz vd., 2012a; Akin ve Dasnik, 2015) kullanılmaktadır.

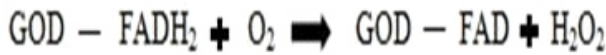
2. Glikoz oksidaz mekanizması ve uygulamaları

Glikoz oksidaz enzimi ilk olarak Muller (1928) tarafından *Aspergillus niger*'den ekstrakte edilerek elde edilmiştir. Yapısal olarak glikoz oksidaz, iki özdeş 80 kDa'luk alt birimden ve kovalent olmayan bağlı iki flavin adenin dinükleotidinden oluşan bir homodimerdir (Wong vd., 2008). Enzim, pH 4,2 ve 4,3 arasında izoelektrik noktaya ve pH 3,5-6,5 arasında optimum aktiviteye sahiptir (Cruz vd., 2010a). Şekil 1'de glikoz oksidaz-FAD (flavin adenin dinükleotit) enziminin koenzim yapısı görülmektedir. Şekil 1'de görülen açık ve koyu mavi kısımlar glikoz oksidazın iki alt birimini, pembe kısım ise FAD koenzimini temsil etmektedir.



Şekil 1. Glikoz oksidaz-FAD enzim koenzim yapısı (Goodsell, 2006).

Glikoz oksidaz, glikoz ve oksijenin serbest hale geçmesi reaksiyonu ile gıdalarda raf ömrünü uzatmaktadır. Enzim, glikozu D-glukono-δ-lakton ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oksitlemektedir. Enzimatik aktivite ile ortaya çıkan H_2O_2 bakterisit etki göstermekte ve daha sonra H_2O_2 katalaz enzim aktivitesi ile ortamdaki uzaklaştırılmaktadır (Clarke vd., 2006; Wong vd., 2008). Glikoz oksidaz (GOD) enzim aktivitesinin kimyasal denkliği aşağıda verilmiştir (Hu vd., 2008).



Glikoz oksidaz enziminin, glikoz ve oksijeni uzaklaştırabilme, H_2O_2 ve glukonik asit oluşturma yeteneği birçok endüstriyel uygulamaya sahiptir. Glikoz oksidaz enzimi temel işlevlerinden birisi olarak hidrojen peroksit üretimi ile antibakteriyel ve antifungal etki yaratmaktadır. Aynı zamanda enzimin sürekli katalitik aktivitesi sayesinde de hidrojen peroksit seviyesinin düşük konsantrasyonda tutulması sağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda istenmeyen mikroorga-nizmaların gelişiminin engellenmesi için mili molar seviyede hidrojen peroksit varlığının yeterli olduğu bildirilmektedir. Bu amaçla istenilen seviyedeki hidrojen peroksit varlığı

ise glikoz oksidaz enziminin katalitik aktivitesi sayesinde sağlanabilmektedir (Leiter vd., 2004; Wong vd., 2008).

Protein moleküllerini molekül içi veya moleküller arası kovalent bağlar yoluyla birleştirme işlemi olarak tanımlanan proteinlerin çapraz bağlanması, gıdaların fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesinde büyük rol oynamakta ve bu işlem başlangıçtaki bileşenin özelliklerinden farklı fizikokimyasal özelliklere sahip yeni makromoleküler yapıların oluşmasına yol açmaktadır. Kimyasal reaktifler genellikle protein zincirleri arasında kovalent bağlar oluşturmak için kullanılırken, enzimler ile çapraz bağlanmada ise uygun bir enzim seçilerek reaksiyonun daha güvenli ve daha iyi kontrol edilmesi sağlanmaktadır (Heck vd., 2013; Isaschar-Ovdat ve Fishman, 2018). Lakkaz ve glikoz oksidaz enzimi bazı gıda proteinlerinin özelliklerini değiştirmede çapraz bağlanma reaksiyonları ile etki göstermektedir. Lakkaz ve glikoz oksidazın çapraz bağlanma reaksiyonlarında peynir altı suyu protein izolatu ile daha yüksek yüzey hidrofobikliği ve viskozite, kazeinat ile ise daha düşük emülsifiye edici aktivite sağlanabilmektedir (Hiller ve Lorenzen, 2009).

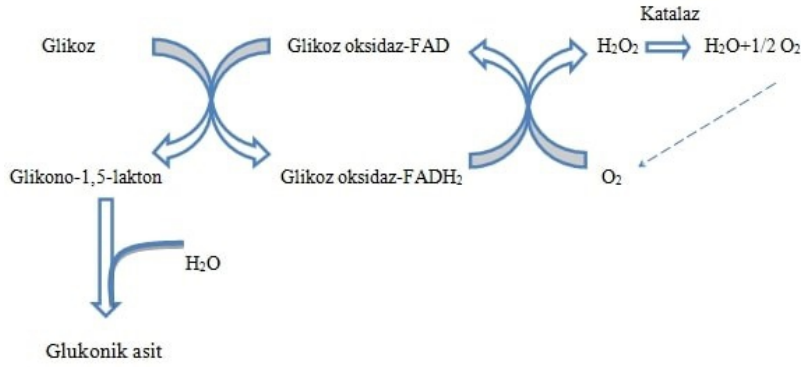
Glikoz oksidazın süt proteinleri sisteminde tek başına (Hiller ve Lorenzen, 2009) ya da glikoz varlığında (Chang ve Zhao, 2012) çapraz bağlanma aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir.

Glikoz oksidaz enzimi, depolama sırasında ambalajlanmış ürün içerisindeki oksijeni tükettiği için probiyotik bakterilerin hayatta kalma şansını arttırmakta, canlılığını ve gelişimini aktive ederek potansiyel koruyucu madde olarak alternatif kaynak oluşturmaktadır. Bu durum, gelişimi aktivite edici ve hücre koruyucu bileşen ilavesi gerektirmeden üretimi mümkün hale getirmektedir. Ayrıca bu enzimin uygulanması için ürünün standart üretim basamaklarından herhangi birisinde bir değişikliğe gerek duyulmamakta ve süt ürünleri işletmesinin endüstriyel üretim prosesi için uygun özellik taşımaktadır. Belirtilen olumlu etkiler ile proses ve ilave bileşen karmaşası yaşamadan son ürün odaklı bir üretim gerçekleştirilebilmektedir (Cruz vd., 2010a).

Glikoz oksidaz ve katalaz enzimleri hücre duvarında doğal olarak bir arada buldukları için endüstride mevcut glikoz oksidaz kitleri bu iki enzimin karışımından oluşmaktadır (Wong vd., 2008). Katalazın glikoz oksidaz enziminden ayrılması

maliyetli bir işlem olduğundan ve katalaz enzimi glikoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksidi parçalayarak, hidrojen peroksidin sebep olacağı deaktivasyonu azaltacağı için bu iki enzim genel olarak bir arada kullanılmaktadır (Bao vd., 2001; Bao vd., 2003; Wong vd., 2008). Glikoz oksidaz enzimi reaksiyon mekanizmasında, reaksiyon süresince glikoz ve O_2 konsantrasyonları azalırken reaksiyon ürünleri olan H_2O_2 ve glukonik asit konsantrasyonu artmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan bu ürünler istenmeyen iki sonucu ortaya çıkarabilmektedir (Şekil 2). Bunlar; glukonik asit oluşumuna bağlı pH'nın düşmesi ve H_2O_2 molekülünün oksidatif özelliklerinden dolayı glikoz oksidazın inaktivasyonudur (Ozyilmaz, 2019).

Glikoz oksidaz enzimi, reaksiyon ortamında üretilen H_2O_2 tarafından inaktive edildiği için, H_2O_2 'in reaksiyon ortamından uzaklaştırılması bu inaktivasyonu engellemek için önemli olmaktadır. H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'ye ayırıtıran katalaz enzimi glikoz oksidaz ile birlikte serbest veya immobilize biçimde bu amaçla kullanılmaktadır (Blandino vd., 2002; Parpinello vd., 2002; Kang ve Bae, 2003; Godjevargova vd., 2004a; Godjevargova vd., 2004b; Ozyilmaz ve Tükel, 2007). Şekil 2'de, glikoz oksidaz tarafından tüketilen oksijenin bir kısmının katalaz aktivitesi ile geri kazanıldığı görülmektedir.



Şekil 2. Glikoz oksidaz-katalaz enzim sistemi (Ozyilmaz, 2019).

Glikoz oksidaz enzimi Food and Drug Administration (FDA) tarafından GRAS (Generally Recognized as Safe/Genel olarak Güvenli Kabul Edilebilir) olarak kabul edilmekle birlikte, gıda endüstrisinde sıvı veya toz formda uygulama şekli ile antioksidan, koruyucu ve stabilizatör olarak da etki göstermektedir. Ayrıca glikoz oksidaz gıdalarda renk ve aroma kaybını da önlemektedir. Çoğunlukla oksijen bağlayıcı olarak etki göstermesi nedeniyle meyve, sebze, süt ve mayonez gibi gıdaların renk ve tat stabilizasyonunda kullanılmaktadır. Glikoz oksidaz aynı zamanda fırıncılık ürünlerinde, gluten yapısını güçlendirmek için kullanılmakta, daha iyi fermente olmuş bir hamur ve iyileştirilmiş ekmek kalitesi elde edilmektedir (Hanft ve Koehler, 2006; Wong vd., 2008; Fernandes, 2018).

Glikozu ortamdaki uzaklaştırmak için glikoz oksidazın kullanımı sprey kurutma ile üretilen kurutulmuş yumurtalarda da kullanılmıştır. Yumurta akında bulunan glikoz, yumurtanın sprey kurutulması sırasında maillard reaksiyonunun gerçekleşmesine neden olmakta ve kurutulmuş yumurtada istenmeyen renk ve aroma bileşenleri ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle yumurta akında glikozun azaltılması amacıyla sprey kurutma öncesinde glikoz oksidaz enzim ilavesi uygulanabilmektedir (Sisak vd., 2006; Wong vd., 2008). Benzer şekilde, alkolü azaltılmış şarap üretiminin gerçekleştirilmesi (Biyela vd., 2009; Valencia vd., 2017; Ruiz vd., 2018), meyve sularının, pürelerinin ve diğer gıdaların depolama

süresini artırmak için oksijenin giderilmesi ve esmerleşme reaksiyonlarının kontrolü (Parpinello vd., 2002; Cruz vd., 2013; Xu vd., 2018) gibi farklı uygulama alanları da bulunmaktadır. Glikoz oksidaz, aynı zamanda tekstilde ağartma için H_2O_2 üretimine alternatif bir yol olarak da kullanılmaktadır (Reis vd., 2017; Qui vd., 2017; Madhu ve Chakraborty, 2019).

Glikoz oksidaz kanda, serumda veya meyve suyu vb. gıdalardaki glikoz miktarını belirlemek için analitik olarak uygulama alanı bulurken, glikoz biyosensörlerinin hazırlanmasında da en çok kullanılan enzim olarak belirlenmiştir. Kullanım alanlarının genişliğinden dolayı glikoz oksidaz ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Guo vd., 2011; Salimi ve Noorbahsh, 2011; Mazeiko vd., 2013; Wang vd., 2013).

Glikoz oksidazın gıda işleme endüstrisindeki en önemli uygulamalarından birisi gıdaların muhafazasıdır. Laktoperoksidaz (LP) sisteminin, glikoz oksidaz ile birlikte kullanıldığında yararlı bir antimikrobiyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Laktoperoksidaz, bağışıklık sisteminin doğuştan gelen savunma mekanizmasının bir parçasıdır ve yabancı mikroorganizmalara karşı koruma sağlayabilen, süt, gözyaşı ve tükürük gibi memeli salgılarında bulunabilen bir enzimdir. Bu sistem üç bileşenli laktoperoksidaz, thiosiyanat (SCN-) ve hidrojen peroksitten oluşmaktadır. LP sisteminin aktivasyonu yalnızca tiyosiyanat ve hidrojen peroksit varlığında gerçekleşmektedir. Laktoperoksidaz tarafından oluşan kataliz reaksiyonlarında, antimikrobiyel özelliklere sahip ve insanlar için tamamen güvenli olan aktif ara bileşenler üretilmektedir. Glikoz oksidaz ve substratının (glikoz) varlığı, laktoperoksidaz sisteminin ihtiyaç duyduğu H_2O_2 'in sürekli olarak üretilmesine ve yenilenmesine izin vermektedir (Seifu vd., 2005; Wong vd., 2008).

Çiğ sütün taşınması veya depolanmasında laktoperoksidaz sisteminin aktif olması mikrobiyel bozulmaya karşı koruyucu etki göstermektedir. Sütte soğutma imkanının mevcut olmadığı durumlarda veya soğutmanın tamamlayıcısı olarak kullanımı tavsiye edilmektedir. Yapılan çalışmalarda aktif LP enzimi içeren sütün raf ömrünün, inaktive edilmiş LP içeren süte kıyasla neredeyse iki katına çıktığı saptanmıştır (Marks vd., 2001). Ayrıca LP sisteminin aktivasyonu, süt ürünleri için mastitis patojenleri de dahil olmak üzere bakteriyel deaktivasyonu artırmak veya daha düşük sıcaklıklarda pastörizasyonu mümkün kılmak için bir ön işlem olarak da önerilmektedir (Seifu vd., 2005). Aynı şekilde laktoperoksidaz-glikoz oksidaz sistemi peynir üretiminde de kullanılmaktadır. Glikoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksit, laktoperoksidaz sisteminde sterilizasyon etkisi gösterirken, üretilen glukonik asit ise doğrudan asitliği arttıran etkide

bulunmaktadır (Wong vd., 2008).

3. Probiyotik süt ürünlerinde glikoz oksidaz kullanımı

Fermente süt ürünlerine probiyotik bakterilerin ilavesi sağlıklı yaşam tarzını benimseyen tüketiciler ve gıda şirketleri için halen gelecek yüzyılın en önemli konularından birisi olmaya devam etmektedir. Süt ürünlerinin, probiyotik bakterilerin gelişimi için uygun ortama sahip olduğu bilinmektedir. Bu ürünlerin düzenli tüketiminin sağlık açısından faydalı olduğunu gösteren çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (Giraffa, 2012; Zago vd., 2021). 'Uygun miktarda tüketildiğinde konakçıya fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar' olarak tanımlanan probiyotik bakteriler, dünya genelinde fonksiyonel gıda pazarının önemli bir bölümünü temsil etmektedir (Giraffa, 2012). Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanabilmesi için; insanların mide-bağırsak sisteminde doğal olarak bulunması ve bağırsak duvarına yüksek oranda tutunabilmesi, istenmeyen mikroorganizmalar ve patojen bakterilere karşı antimikrobiyel bileşenler üretebilmesi, mide asidi, safra tuzları, oksijen ve enzimlere karşı stabilitesini koruyabilmesi, antibiyotiklere karşı dirençli olması ve insan sağlığına faydalı olması gerekmektedir (Champagne vd., 2018; Ozyurek ve Ozcan, 2020; Özcan ve Akpınar-Bayizit, 2020).

Probiyotiklerin yararları arasında genel olarak gastrointestinal bozukluklara karşı koruma sağlayabilen sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının oluşturulması, vücudun doğal savunma mekanizmalarının güçlendirilmesi, nörolojik, immünolojik ve metabolik olumlu etkiler yer almaktadır (Ozyurek ve Ozcan, 2020). Probiyotik bakteriler, insan sağlığı açısından olumlu etki yaratabilmesi için ilave edildiği ürüne uygulanan teknolojik işlemler ve raf ömrü süresince hayatta kalabilmesidir. Ayrıca gastrointestinal sistemden geçişten sonra da canlı kalabilmesi ve bağırsak ortamında faaliyet gösterebilmesi de gerekmektedir. Bu anlamda probiyotik bakterilerden beklenen faydayı sağlayabilmek için suşların tanımlanması ve uygun kullanım alanlarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Giraffa, 2012; Govender vd., 2014). Yoğurt ve fermente süt gibi probiyotik süt ürünlerinde istenilen terapötik etkinin sağlanabilmesi için, probiyotik bakterilerin canlılığının ürünün depolanma süresi boyunca yeterli seviyede korunması ve probiyotik gıda ürünlerinde minimum 10^6 cfu g^{-1} probiyotik bakteri bulunması gerekmektedir (koloni oluşturan birim, kob; colony forming unit; cfu). Gastrointestinal sistemden geçiş sırasında oluşabilecek azalmayı telafi etmek amacıyla ise günlük doz olarak 10^8 cfu g^{-1} olarak önerilmektedir (Granato vd., 2010a; Granato vd., 2010b; Figueroa-Gonzalez vd., 2011).

Son üründe aktif probiyotik hücre sayısını; probiyotik suş, aşılama oranı, başlangıç hücre konsantrasyonu, pH, asitlik, moleküler oksijen, su aktivitesi, tuz, şeker, hidrojen peroksit, bakteriyosinler, ısıtma işlemi, inkübasyon sıcaklığı, ürünün soğutma hızı, ambalaj malzemeleri ve üretim yöntemi gibi parametreler etkilemektedir (Özcan ve Akpınar-Bayizit, 2020). Bu nedenle araştırmacılar ve üreticiler yüksek sayıda probiyotik bakteri içeren ve biyoterapötik yararı bulunan ürünlerin geliştirilmesi üzerine çalışmaktadır. Oksijen içeriği ve redoks potansiyelinin, fermente sütlerde depolama sırasında özellikle *Bifidobacterium* türlerinin canlılığını etkileyen önemli faktörler olduğu belirtilmiştir. Üründe proses ve depolama süresi, mikroorganizmanın toksisitesini ve ölümünü, buna bağlı olarak da ürünün işlevselliğinin yitirilmesini önlemek için mümkün olduğu kadar düşük oksijen seviyesi göz önünde bulundurularak planlanmalıdır (Cruz vd., 2007; Cruz vd., 2009).

Yoğurdun probiyotik kültürlerle üretimi sırasında özellikle kültürlerin canlılığını sürdürmesi teknolojik açıdan kolay olmamaktadır (Corcoran vd., 2008). Probiyotik yoğurtların işlenmesi sırasında probiyotik bakterilerin stabilitesi ve gıda matriksinde maruz kaldığı stres ürünün terapötik etkisini değiştirebilmektedir. Bu canlılığı ve aktiviteyi etkileyen faktörler genel olarak; asit stresi, soğuk stresi ve oksidatif stres olarak açıklanmaktadır (Granato vd., 2010b; Özcan ve Akpınar-Bayizit, 2020).

Probiyotik bakterileri etkileyen önemli faktörlerden birisi, soğuk depolama sırasında plastik ambalajın içinden geçen oksijenin neden olduğu oksidatif strestir (Granato vd., 2010a). Oksidatif stresi azaltmak için bazı teknolojik alternatifler önerilmektedir. Bu yöntemler,

- i) oksijene toleranslı suşların geliştirilmesi,
 - ii) stresi azaltıcı etkileri olan bileşiklerin (enzim, şeker, organik asit vb.) ilave edilmesi
 - iii) mikroenkapsülasyon,
 - iv) prebiyotiklerin ilavesi
 - v) redoks potansiyelini değiştirmek için N_2 ve N_2H_4 gazlarının ilavesidir
- (Zhao ve Li, 2008; Horiuchi vd., 2009; Jeanson vd., 2009; Li vd., 2010; Ebel vd., 2011; Özcan ve Akpınar-Bayizit, 2020).

Ayrıca, süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılıklarının korunması ve geliştirilmesi için son yıllarda, ilave edilen probiyotiklerin farklı polimerler üzerine bağlanması (Rodrigues vd., 2011), fermentasyon için gerekli inkübasyon sıcaklığının ve son pH'nın ayarlanması (Shafiee vd., 2010) ve ses dalgalarının probiyotik bakteriler ile birlikte uygulamaları (Mohammadi vd., 2011) gibi farklı yaklaşımlar da geliştirilmiştir.

Oksidatif stres; yüksek oksijen seviyesi, süperoksit iyonu veya hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ile indüklenmektedir. Probiyotik suşlar, fakültatif veya tamamen anaerobik bir özellik gösterdiklerinden ROS biriktiğinde oksidatif strese neden olmakta bu da proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar vererek bakteri hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır (Plessas vd., 2012; Feng ve Wang, 2020). Yoğurt üretimi sırasında glikoz oksidaz enzimi ilavesi, probiyotik yoğurtlarda oksidatif stresi azaltmak için potansiyel bir seçenek olarak belirtilmektedir. Genel olarak bu uygulama ile araştırmacılar tarafından yüksek bakteri sayısı, yoğurtların bazı fizikokimyasal ve duyuşsal parametrelerinde küçük değişiklikler saptanmıştır (Cruz vd., 2010a; Cruz vd., 2012a).

Alternatif bir uygulama olarak glikoz-glikoz oksidaz enzim kompleksinin üründe çözünmüş oksijeni azaltmak için kullanımı önerilmektedir. Sonuç olarak; bu şekilde probiyotik bakteri sayısı tüketiciye fayda sağlayacak seviyede tutulabilmektedir. Bu yaklaşım ve yüzey tepki metodolojisi kullanılarak tahmini modeller uygulanıp doğrulandığında *Bifidobacterium longum* sayısının tahmininde glikoz oksidazın önemli bir değişken olduğu saptanmıştır (Cruz vd., 2010a). Yapılan çalışmada, artan enzim seviyesinin üründeki probiyotik canlılığı üzerinde olumlu etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Üretim sırasında glikoz oksidaz ilavesinin probiyotik yoğurtlarda oksidatif stresin azaltılması için potansiyel bir seçenek olabileceği belirtilmiştir. Genel olarak soğuk depolama boyunca yüksek sayılarda canlılık gösteren probiyotik suşlar *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium longum* olarak saptanmıştır (Cruz vd., 2013).

Ambalajın oksijen geçirgenliği probiyotik canlılık üzerinde olumsuz etkiye sebep olabilmektedir (Ranadheera vd., 2013). Düşük oksijen geçirgenliğine sahip plastik materyallerin kullanımı paketleme sisteminden geçen ve gıda matriksi ile temasa geçen oksijen miktarını azaltabilmektedir. Cruz vd. (2012b), ürüne eklenen glikoz oksidaz ile ambalajlama sistemi arasında sinerjik bir etkileşim olduğunu bildirmişlerdir. Farklı oksijen geçirgenliği seviyelerine sahip ambalajlama sistemlerinin kullanımında glikoz oksidaz ilavesi ile çözünmüş oksijen düşük seviyelerde tutulmuş ve depolamanın 21. gününe kadar *B. longum* ve *L. acidophilus*'un hücre canlılığının yeterli seviyede kaldığı belirtilmiştir.

Akin ve Dasnik (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı seviyelerde askorbik asit ve glikoz oksidaz enzimi ilavesinin simbiyotik dondurma üzerindeki etkileri incelenmiştir. Fermente süt; probiyotik suşlar ve %2 inülin içerecek şekilde

dondurma üretiminde kullanılmıştır. Dondurmanın üretiminde, farklı askorbik asit ve glikoz oksidaz konsantrasyonları içeren dondurma miksleri kullanılmıştır. Kültürler sütte 37°C'de 12 saat geliştirilmiştir. Ağırlıkça %10 seviyesine kadar fermente süt dondurma karışımına ilave edilmiştir. Artan askorbik asit konsantrasyonu *L. acidophilus* LA-5 ve *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12'nin gelişimini teşvik etmiştir. Aksine glikoz oksidaz konsantrasyonundaki artış *L. acidophilus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir. En yüksek canlı bakteri sayısı, %0,1 askorbik asit içeren örneklerde tespit edilmiştir. Glikoz oksidaz ve askorbik asit konsantrasyonlarının ikisinin de dondurmanın fiziksel ve duyuşal özellikleri üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır.

Probiyotik yoğurtlarda oksijenin sebep olduğu toksisiteyi azaltmak için glikoz oksidazın etkili bir teknolojik alternatif olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada glikoz oksidazın çözünmüş oksijende azalmaya sebep olduğu ve 15 gün soğukta muhafaza sırasında *B. longum* sayılarının 10^8 log cfu mL⁻¹ seviyesinde korunduğu belirtilmiştir (Cruz vd., 2010b). Bununla birlikte, glikoz oksidaz uygulamasında ticari olarak beğenilirliği arttırmak için, ürünün potansiyel tüketicileriyle duyuşal bir test yapmanın gerektiği de belirtilmiştir (Kemp, 2008).

Batista vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada farklı oranlarda (250 ppm ve 500 ppm) glikoz oksidaz ilave edilmiş yoğurtlarda, probiyotik bakterilerin canlılıklarını sürdürürebilmeleri için uygun bir ortamın oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu örneklerde daha yüksek diasetil, asetaldehit, konjuge linoleik asit (CLA), laktik asit ve asetik asit oranı saptanmıştır. Afjeh vd. (2019), magnetik kitosan nanopartiküller üzerine modifiye ettikleri glikoz oksidaz enziminin probiyotik bakterilerin canlılığı ve yoğurdun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, depolama süresince glikoz oksidaz enzimi eklenmiş ürünlerde probiyotik bakterilerin sayısındaki azalmanın enzim eklenmemiş kontrol örneklerine göre daha az olduğunu ve 500 mg/kg oranındaki enzim uygulamasında ise en yüksek *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* sayılarına ulaşıldığını belirlemişlerdir.

Cruz vd. (2011) ve Cruz vd. (2012c) tarafından yapılan çalışmalarda glikoz oksidaz ilave edilmiş probiyotik yoğurtların duyuşal özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda ürünlerin duyuşal açıdan kabul edilebilir bir performans gösterdikleri belirtilmiştir. Glikoz oksidaz ilavesinin probiyotik yoğurtların duyuşal kabulü üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

4. Sonuç

Son yıllarda gelişen teknolojilerle birlikte glikoz oksidazın endüstriyel açıdan birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında; süt ürünlerinde oksidatif stresi azaltıp probiyotik bakterilerin gelişimini kolaylaştırmada, mikrobiyel inhibisyonda ve raf ömrünün uzatılmasında glikoz oksidazın bir alternatif olabileceği belirtilmiştir. Glikoz oksidaz ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok ilave edildiği gıdada çözünmüş oksijeni azaltarak H₂O₂ oluşturması, gıdaya antimikrobiyel etki kazandırması, aynı zamanda mikroaerofilik veya anaerobik olan probiyotik bakterilerin gelişimini kolaylaştırması yönündedir. Glikoz oksidazın etki mekanizmasını inceleyebilmek için yapılan çalışmaların önemli bir bölümünün farklı matrikse sahip ürünlerde yapıldığı dikkati çekmektedir. Bu sebeple de süt ve süt ürünlerine glikoz oksidaz enzimi ilavesi, probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine etkisi ve glikoz oksidaz enzim katalizli protein çapraz bağlanmaları ilgili daha fazla çalışmanın yapılması beklenmektedir.

5. Kaynaklar

- Afjeh, M.E.A., Pourahmad, R., Akbari-Adergani, B. and Azin, M. (2019). Use of glucose oxidase immobilized on magnetic chitosan nanoparticles in probiotic drinking yogurt. *Food Science of Animal Resources*, 39(1): 73-83.
- Akin, M.B. and Dasnik, F. (2015). Effects of ascorbic acid and glucose oxidase levels on the viability of probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in symbiotic ice-cream. *Mljekarstvo*, 65(2): 121-129.
- Bao, J., Furumoto, K., Fukunaga, K. and Nakao, K. (2001). A kinetic study on air oxidation of glucose catalyzed by immobilized glucose oxidase for production of calcium gluconate. *Biochemical Engineering Journal*, 8(2): 91-102.
- Bao, J., Furumoto, K., Yoshimoto, M., Fukunaga, K. and Nakao, K. (2003). Competitive inhibition by hydrogen peroxide produced in glucose oxidation catalyzed by glucose oxidase. *Biochemical Engineering Journal*, 13(1): 69-72.
- Batista, A.L., Silva, R., Cappato, L.P., Almada, C.N., Garcia, R.K., Silva, M.C. and Cruz, A. G. (2015). Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses. *Food Research International*, 7 (3): 627-635.
- Biyela, B.N.E., Du Toit, W.J., Divol, B., Malherbe, D.F. and Van Rensburg, P. (2009). The production of reduced-alcohol wines using Gluzyne Monor 10.000 BG-treated grape juice. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 30(2): 124-132.

- Blandino, A., Macías, M. and Cantero, D. (2002). Modelling and simulation of a bienzymatic reaction system co-immobilised within hydrogel-membrane liquid-core capsules. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(4): 556-565.
- Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Carpi, G. and Galassi, S. (2000). Effects of high hydrostatic pressure processing and of glucose oxidase-catalase addition on the color stability and sensorial score of grape juice. *Food Science and Technology International*, 6(1): 17-23.
- Champagne, C.P., Gomes da Cruz, A. and Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, 22: 160-166.
- Chang, C.H. and Zhao X.H. (2012). In vitro digestibility and rheological properties of caseinates treated by an oxidative system containing horseradish peroxidase, glucose oxidase and glucose. *International Dairy Journal*, 27(1-2): 47-52.
- Clarke, K.G., Johnstone-Robertson, M., Price, B. and Harrison, S.T.L. (2006). Location of glucose oxidase during production by *Aspergillus niger*. *Applied microbiology and biotechnology*, 70(1): 72-77.
- Corcoran, B.M., Stanton, C., Fitzgerald, G. and Ross, R.P. (2008). Life under stress: The probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design*, 14(14): 1382-1399.
- Cruz, A.G., Walter, E.H.M., Cadena, R.S., Faria, J.A.F., Bolini, H.M.A. and Sant'Ana, A. (2010b). Survival analysis methodology to predict the shelf-life of probiotic flavored yoghurt. *Food Research International*, 43(5): 1444-1448.
- Cruz, A.G., Antunes, A.E.C., Sousa, A.L.O.P., Faria, J.A.F. and Saad, S.M.I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9): 1233-1239.
- Cruz, A.G., Cadena, R.S., Faria, J.A., Bolini, H.M., Dantas, C., Ferreira, M.M. and Deliza, R. (2012b). Parafac: Adjustment for modeling consumer study covering probiotic and conventional yogurt. *Food Research International*, 45(1): 211-215.
- Cruz, A.G., Cadena, R.S., Faria, J.A., Oliveira, C.A., Cavalcanti, R.N., Bona, E., Bolini, M.A. and Da Silva, M.A.A. (2011). Consumer acceptability and purchase intent of probiotic yoghurt with added glucose oxidase using sensometrics, artificial neural networks and logistic regression. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4): 549-556.
- Cruz, A.G., Castro, W.F., Faria, J., Bolini, H.M.A., Celeghini, R.M.S., Raices, R.S.L., Oliveira, C.A.F., Freitas, M.Q., Conte Junior, C.A. and Mársico, E.T. (2013). Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International*, 51(2): 723-728.
- Cruz, A.G., Castro, W.F., Faria, J.A.F., Bogusz, S., Granato, D. and Celeguini, R.M.S. (2012c). Glucose oxidase: A potential option to decrease the oxidative stress in stirred probiotic yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 47(2): 512-515.
- Cruz, A.G., Castro, W.F., Faria, J.A.F., Lollo, P.C.B., Amaya-Farfán, J., Freitas, M.Q., Rodrigues, D., Oliveira, C.A.F. and Godoy, H.T. (2012a). Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *Journal of Dairy Science*, 95(5): 2261-2269.
- Cruz, A.G., Faria, J.A.F. and Van Dender, A.G.F. (2007). Packaging system and probiotic dairy foods. *Food Research International*, 40(8): 951-956.
- Cruz, A.G., Faria, J.A.F., Walter, E.H.M., Andrade, R.R., Cavalcanti, R.N., Oliveira, C.A.F. and Granato, D. (2010a). Processing optimization of probiotic yoghurt containing glucose oxidase using the response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 93 (11): 5059-5068.
- Dahm, L. (2006). Enzymes and cultures. *Dairy Field*, 189(6): 73.
- Ebel, B., Martin, F., Le, L.D.T., Gervais, P. and Cachon, R. (2011). Use of gases to improve survival of *Bifidobacterium bifidum* by modifying redox potential in fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 94(5): 2185-2191.
- Feng, T. and Wang J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: A systematic review. *Gut Microbes*, 12(1): 1801944.
- Fernandes, P. (2018). Enzymatic Processing in The Food Industry. Reference Module in Food Science, 1st ed., Ed: G. Smithers. Elsevier, Portugal, pp.1-11.
- Figuerola-González, I., Quijano, G., Ramírez, G. and Cruz-Guerrero, A. (2011). Probiotics and prebiotics- Perspectives and challenges. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(8): 1341-1348.
- Giraffa, G. (2012). Selection and design of lactic acid bacteria probiotic cultures. *Engineering in Life Sciences*, 12(4): 391-398.
- Godjevargova, T., Dayal, R. and Marinov, I. (2004a). Simultaneous covalent immobilization of glucose oxidase and catalase onto chemically modified acrylonitrile copolymer membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 91(6): 4057-4063.

- Godjevargova, T., Dayal, R. and Turmanova, S. (2004b). Gluconic acid production in bioreactor with immobilized glucose oxidase plus catalase on polymer membrane adjacent to anionexchange membrane. *Macromolecular Bioscience*, 4(10): 950-956.
- Goodsell, D.S. (2006). Glucose oxidase. Molecule of the month. PCSB Protein Data Bank.
- Govender, M., Choonara, Y.K., Kumar, P., du Toit, L.C., van Vuuren, S. ve Pillay, S., 2014. A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *The Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 15(1): 29-43.
- Granato, D., Branco, G.F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F. and Shah, N.P. (2010b). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5): 455-470.
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G. and Faria, J.A. (2010a). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3): 292-302.
- Guo, M., Fang, H., Wang, R., Yang, Z. and Xu, X. (2011). Electrodeposition of chitosan-glucose oxidase biocomposite onto Pt-Pb nanoparticles modified stainless steel needle electrode for amperometric glucose biosensor. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22(8): 1985-1992.
- Hanft, F. and Koehler, P. (2006). Studies on the effect of glucose oxidase in bread making. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(11): 1699-1704.
- Heck, T., Faccio, G., Richter, M. and Thöny-Meyer, L. (2013). Enzyme-catalyzed protein crosslinking. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2): 461-475.
- Hiller, B. and Lorenzen, P.C. (2009). Functional properties of milk proteins as affected by enzymatic oligomerisation. *Food Research International*, 42(8): 899-908.
- Horiuchi, H., Inoue, H., Liu, E., Fukui, M., Sasaki, Y. and Saaki T. (2009). A method for manufacturing superior set yogurt under reduced oxygen concentration. *Journal of Dairy Science*, 92(9): 4112-4121.
- Hu, S., Lu, Q. and Xu, Y. (2008). Biosensors Based On Direct Electron Transfer Of Protein. *Electrochemical Sensors, Biosensors and Their Biomedical Applications*, 1st ed., Eds: X. Zhang, H. Ju, J. Wang. Academic Press, USA, pp. 531-581.
- Isaksen, A. and Adler-Nissen, J. (1997). Antioxidative effect of glucose oxidase and catalase in mayonnaises of different oxidative susceptibility. I. Product trials. *LWT-Food Science and Technology*, 30(8): 841-846.
- Isaschar-Ovdat, S. and Fishman, A. (2018). Crosslinking of food proteins mediated by oxidative enzymes—A review. *Trends in Food Science and Technology*, 72: 134-143.
- Jeanson, S., Hilgert, N., Coquillard, M.O., Seukpanya, C., Faiveley, M., Neveu, P., Abraham, C., Georgescu, V., Fourcassie, P. and Beuvier, E. (2009). Milk acidification by *Lactococcus lactis* is improved by decreasing the level of dissolved oxygen rather than decreasing redox potential in the milk prior to inoculation. *International Journal of Food Microbiology*, 131(1): 75-81.
- Kang, S.I. and Bae, Y.H. (2003). A sulfonamide based glucose-responsive hydrogel with covalently immobilized glucose oxidase and catalase. *Journal of Controlled Release*, 86(1): 115-121.
- Kemp, S.E. (2008). Application of sensory evaluation in food research. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9): 1507-1511.
- Leiter, E., Marx, F., Pusztahelyi, T., Haas, H. and Pocsí, I. (2004). *Penicillium chrysogenum* glucose oxidase—a study on its antifungal effects. *Journal of applied microbiology*, 97(6): 1201-1209.
- Leskovac, V., Trivić, S., Wohlfahrt, G., Kandrač, J. and Peričin D. (2005). Glucose oxidase from *Aspergillus niger*: The mechanism of action with molecular oxygen, quinones, and one-electron acceptors. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37(4): 731-750.
- Li, Q., Chen, Q., Ruan, H., Zhu, D. and He, G. (2010). Isolation and characterisation of an oxygen, acid and bile resistant *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Qq08. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(8): 1340-1346.
- Madhu, A. and Chakraborty, J.N. (2019). Bio-bleaching of cotton with H₂O₂ generated from native and immobilized glucose oxidase. *AATCC Journal of Research*, 6(2): 7-17.
- Marks, N.E., Grandison, A.S. and Lewis, M.J. (2001). Challenge testing of the lactoperoxidase system in pasteurized milk. *Journal of Applied Microbiology*, 91(4): 735-741.
- Mazeiko V., Kausaite-Minkstimiene A., Ramanaviciene A., Balevicius Z. and Ramanavicius A. (2013). Gold nanoparticle and conducting polymer—polyaniline -based nanocomposites for glucose biosensor design. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 189: 187-193.

- Mohammadi, R., Rouhi, M. and Mortazavian A.M. (2011). Effects of music waves on fermentation characteristics and viability of starter cultures in probiotic yogurt. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 66(2): 193-196.
- Muller, D. (1928). Oxidation von glukose mit extrakten aus *Aspegillus niger*. *Biochemistry*, 199: 136-170.
- Ozyilmaz G. and Tükel S.S. (2007). Simultaneous co-immobilization of glucose oxidase and catalase in their substrates. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 43(1): 29-35.
- Ozyilmaz, G. (2019). Glucose Oxidase applications and comparison of the activity assays. *Natural and Engineering Sciences*, 4(3): 253-267.
- Ozyurek, M.B. and Ozcan, T. (2020). Mechanisms of psychobiotic effect and gut microbiota. *International Journal of Science, Technology and Design*, 1(1): 59-77.
- Özcan, T. ve Akpınar-Bayizit, A. (2020). Probiyotik Kültürlerin Muhafazası. *Probiyotik Yüz Yılı*, 1st ed., Eds: M. Akçelik, P. Şanlıbaba, N. Akçelik, B.U. Tezel. Gazi Kitabevi, Ankara, pp. 247-293.
- Parpinello, G.P., Chinnici, F., Versari, A. and Riponi, C. (2002). Preliminary study on glucose oxidase-catalase enzyme system to control the browning of apple and pear purées. *LWT-Food Science and Technology*, 35(3): 239-243.
- Plessas, S., Bosnea, L., Alexopoulos, A. and Bezirtzoglou, E. (2012). Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: A review. *Engineering in Life Sciences*, 12(4): 433-440.
- Qui, F., Li F.Y. and Yang, Q.Y. (2017). Preparation of magnetic immobilized glucose oxidase and bleaching of cotton fabrics. *Textile Bioengineering and Informatics Symposium Proceedings*, 3: 829-835.
- Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C. and Baines, S.K. (2013). Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research*, 112(1-3): 174-180.
- Reis, C.Z., Fogolari, O., Oliveira, D., De Arruda Guelli Ulson de Souza, S.M. and De Souza, A.A.U. (2017). Bioscouring and bleaching of knitted cotton fabrics in one-step process using enzymatically generated hydrogen peroxide. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 95(11): 2048-2055.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T., Sousa, S., Gomes, A.M., Pintado, M., Xavier Malcata, F., Sousa Lobo, J.M., Silva, J.P., Costa, P., Hamaral, M. and Freitas, A. (2011). On the viability of five probiotic strains when immobilised on various polymers. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1): 137-144.
- Ruiz, E., Busto, M.D., Ramos-Gómez, S., Palacios, D., Pilar-Izquierdo, M.C. and Ortega, N. (2018). Encapsulation of glucose oxidase in alginate hollow beads to reduce the fermentable sugars in simulated musts. *Food Bioscience*, 24: 67-72.
- Salimi, A. and Noorbakhsh, A. (2011). Layer by layer assembly of glucose oxidase and thiourea onto glassy carbon electrode: fabrication of glucose biosensor. *Electrochimica Acta*, 56(17): 6097-6105.
- Seifu, E., Buys, E.M. and Donkin, E.F. (2005). Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 16(4): 137-154.
- Shafiee, G., Mortazavian, A.M., Mohammadifar, M.A. Koush-ki, M.R., Mohammadi, A. and Mohammadi, R. (2010). Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological characteristics of probiotic fermented milk. *African Journal of Microbiology Research*, 4(12): 1265-1274.
- Sisak, C., Csanádi, Z., Rónay, E. and Szajáni, B. (2006). Elimination of glucose in egg white using immobilized glucose oxidase. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5): 1002-1007.
- Valencia P., Espinoza K., Ramirez C., Franco W. and Urtubia A. (2017). Technical feasibility of glucose oxidase as a pre-fermentation treatment for lowering the alcoholic degree of red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 68(3): 386-389.
- Wang, L., Gao, X., Jin, L., Wu, Q., Chen, Z. and Lin, X. (2013). Amperometric glucose biosensor based on silver nanowires and glucose oxidase. *Sensors and Actuators B*, 176: 9-14.
- Wong, C.M., Wong, K.H. and Chen, X.D. (2008). Glucose oxidase: Natural occurrence, function, properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(6): 927-938.
- Xu, D., Sun, L., Li, C., Wang, Y. and Ye, R. (2018). Inhibitory effect of glucose oxidase from *Bacillus* sp. *CAMT22370* on the quality deterioration of Pacific white shrimp during cold storage. *LWT- Food Science and Technology*, 92: 339-346.
- Zago, M., Massimiliano, L., Bonvini, B., Penna, G., Giraffa, G. and Rescigno, M. (2021). Functional characterization and immunomodulatory properties of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from Italian hard cheeses. *Plos One*, 16(1): 1-13.
- Zhao, X.H. and D. Li. (2008). A new approach to eliminate stress for two probiotics with chemicals *in vitro*. *European Food Research and Technology*, 227(5): 1569-1574.