



Laktik Starter Kültür Üretim Teknolojisi

Furkan Demirgöl^{a1}, Osman Sağdıç^b

^aİstanbul Kavram Meslek Yüksekokulu, Otel Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü, İstanbul, Türkiye

^bYıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

(İlk Geliş Tarihi 28 Temmuz 2017 ve Kabul Tarihi 20 Aralık 2017)

Öz

Starter kültür, fermantasyon sürecini hızlandırıp yönlendirerek istenen özelliklerde fermente gıda üretmek amacıyla hammaddeye katılan mikroorganizma kültürü olarak tanımlanabilir. Fermente gıda üretiminde en çok kullanılan mikroorganizmalar laktik asit bakterileridir. Laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanılabilmesi için endüstriyel özellikleri iyi belirlenmelidir. Laktik asit bakterilerinin bakteriyofajlara duyarlılıkları, asit ve aroma bileşikleri oluşturma kabiliyetleri, bakteriyosin üretme potansiyelleri gibi endüstriyel öneme sahip özelliklerinin ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir. Ticari starter kültür üretiminde kullanılan yöntemler üretim ve kalite açısından çok önemlidir. Piyasada satılan kültürler; üretim yöntemlerine bağlı olarak sıvı, toz (püskürtülerek kurutulmuş ve dondurularak kurutulmuş) ve dondurulmuş kültürler olmak üzere 3 temel formda üretilmektedir. Bu çalışmanın amacı starter kültürlerin seçim kriterleri ile üretim teknolojileri hakkındaki mevcut literatürü tarayarak bu alanda yapılacak olan çalışmalara katkı sağlamaktır.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri, fermantasyon, starter kültür, sıvı starter kültür, toz starter kültür, dondurulmuş starter kültür.

Lactic Starter Culture Production Technology

Abstract

Starter culture can be defined as the microorganism culture that is added to the raw material in order to accelerate and manipulate the fermentation process to produce fermented food that had desired characteristics. The most commonly used microorganisms in fermented food production are lactic acid bacteria. The industrial properties of lactic acid bacteria must be well determined so that they can be used as starter cultures. The ability of lactic acid bacteria to susceptibility to bacteriophages, their ability to form acid and aroma compounds, and their potential to produce bacteriocin should be investigated in detail. The methods used in commercial starter culture production are very important in terms of production and quality. Cultures sold in the market; are produced in 3 basic forms as liquid, powder (spray-dried and freeze-dried) and frozen cultures depending on the production methods. The aim of this study is to contribute to the studies to be done on this field by searching the available literature on production technologies and selection criteria of starter cultures.

Keywords: Lactic acid bacteria, fermentation, starter culture, liquid starter culture, powder starter culture, frozen starter culture.

¹ Corresponding Author: İstanbul Kavram Meslek Yüksekokulu, Otel Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü;
furkan.demirgul@kavram.edu.tr

1. Giriş

Fermantasyon işlemi mikroorganizmaların keşfinden çok önce bile bilinmekteydi ancak proses anlaşılmadığı için gizemli görünmekteydi (Hansen, 2002). Son iki yüzyıldır mikroorganizmaların keşfiyle ve mikrobiyolojinin bilimsel bir disiplin haline dönüşmesiyle birlikte artık gıda fermantasyonu kontrol edilebilmektedir. Böylece fermantasyon uygun koşullarda istenen özellikteki mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılması sonucu başlatılabilmektedir (Hansen, 2014). Fermente gıda üretiminde en çok kullanılan ve ticari starter kültür olarak en geniş ve değerli grubu oluşturan mikroorganizmalar laktik asit bakterileridir (LAB) (Hansen, 2002). Gıda kaynaklı çoğu LAB GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsünde olmasına rağmen, LAB arasında artan antibiyotik dirençlilik ve bu dirençliliğin patojen bakterilere aktarılabilir olması, LAB'ın özellikle ısı işlem görmeden tüketilen gıdalarda starter kültür olarak kullanılmasını sınırlamaktadır (Mathur ve Singh, 2005). Özellikle *Enterococcus* cinsi üyesi bakterilerde antibiyotik dirençlilik sık gözlenmektedir (Demirgöl ve Tuncer, 2017). Bunun yanında probiyotik özelliği de bulunan bazı *Lactobacillus* cinsi üyeleri ile *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactococcus* cinsi üyesi bakterilerde de antibiyotik dirençlilik artma eğilimindedir. Bu nedenle starter kültür olarak kullanılması düşünülen LAB'm, tüm testlere ilave olarak antibiyotik direnci bakımından da taranması gerekmektedir (Darsanaki vd., 2013).

Fermantasyonun ilk amacının gıdaları korumak olduğu kabul edilir. Bu öncelikle, karbonhidratların mikrobiyal olarak asitlere ve/veya alkollere dönüştürülmesi ve saprofit mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen antimikrobiyal moleküllerin üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Gıda fermantasyonunun kontrol edilmesi gıdaların lezzet ve tekstür gibi özelliklerinin standartlaşması açısından da oldukça önemlidir (Bachmann vd., 2015).

2. Starter kültür

Fermente gıdaların üretiminde, fermantasyondan sorumlu olan mikroorganizmaların kaynağı değişiklik gösterebilir. Bu mikroorganizmalar substratın üzerindeki doğal mikroflorada bulunabilir, daha önce üretilmiş başarılı bir ürün kullanılarak elde edilebilir veya ürüne doğrudan ticari starter kültür ilavesi yapılabilir (Blandino vd., 2003; Hansen, 2014).

Starter kültür, kontrollü ve güvenilir bir fermantasyon sağlamak amacıyla gıdalara katılan, özellikleri iyi belirlenmiş mikroorganizma kültürü olarak tanımlanabilir (Leroy ve Vuyst, 2004).

Starter kültürlerin, fermente gıdaların üretiminde, aroma ve tekstür gelişimindeki hayati önemlerinin anlaşılmasıyla birlikte endüstrinin starter kültürlere yoğun bir ilgisi olmuştur. Başlangıçta çoğunlukla süt endüstrisinde kullanılan starter kültürler günümüzde endüstriyel anlamda üretilen hemen her fermente gıdada kullanılmaktadır. Fermente gıda üretiminde starter kültürlerin kullanılması

doğru ve tahmin edilebilir ürünlerin üretilmesini sağladığı gibi istenmeyen metabolitlerin oluşmasını da engeller (Altieri vd., 2016).

Gıdaların üretiminde, gıdanın özelliğine göre arzulanan özellikleri optimum ölçüde sağlayan mikroorganizmalar starter kültür olarak kullanılmaktadır. Yoğurt üretiminde en iyi sonuç *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* kültürlerinin eşit oranda kullanılmasıyla alınmaktayken, *Lb. plantarum*, salatalık ve lahana turşusu ile zeytin fermantasyonunda en fazla kullanılan starter kültürdür (Şengün, 2011). Laktik asit bakterilerinin yanı sıra şarap, bira ve ekmek üretiminde mayalardan (*Saccharomyces cerevisiae*'nin değişik suşları) ve bazı özel tip peynirlerde küflerden (*Penicillium roqueforti* vb.) starter kültür olarak yararlanılmaktadır.

3. Laktik asit bakterilerinin (LAB)

starter kültür olarak önemi

LAB başta fermente süt ürünleri olmak üzere pek çok gıdanın fermantasyonunda uzun zamandır starter kültür olarak kullanılmaktadır. Starter kültür olarak LAB öncelikle laktik asit üretme yeteneklerinden dolayı kullanılmaktadır. Ancak bunun yanında istenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonu, gıdanın duyuusal ve tekstürel özelliklerinin iyileştirilmesi ve sağlığa katkıda bulunma gibi özellikleri, LAB'm starter kültür olarak çok tercih edilmesini sağlamaktadır (Tamime vd., 2006; Carminati vd., 2010).

LAB organoleptik özellikleri artıran ve fermente gıdaların spesifik kimliğini belirleyen çeşitli aroma bileşikleri üretir. Aroma bileşikleri, laktoz ve sitrat fermantasyonundan, proteinlerin ve yağın parçalanmasından, amino asitlerden ve serbest yağ asitlerinden üretilebilir (Carminati vd., 2010).

LAB, fermantasyon sonucu ürettiği laktik asit ve diğer organik asitlerle asitliği artırarak pek çok saprofit ve patojen bakterinin gelişme ve çoğalmasını engeller. Birçok LAB suşu, inhibitör etkiye sahip sekonder metabolitler (bakteriyosin, hidrojen peroksit, diasetil ve asetaldehit gibi) üreterek de gıda güvenilirliğini artırır. Ayrıca bazı LAB suşlarının süt ürünlerinin tekstürel özelliklerini iyileştiren ekzopolisakkarit (EPS) üretme yeteneği de bulunmaktadır (Carminati vd., 2010).

4. Laktik starter kültür üretim

teknolojisi

4.1. Laktik starter kültür seçim kriterleri

LAB'm starter kültür olarak kullanılabilmesi için endüstriyel özelliklerinin iyi belirlenmesi gerekmektedir. Öncelikle starter kültürlerin kesin identifikasyonlarının yapılması gerekir. Bu kapsamda kültürlerin morfolojik ve fizyolojik özellikleri belirlenmelidir. Karbonhidrat

metabolizma profilleri, en iyi gelişme koşulları, üretilen laktik asidin konfigürasyonu gibi tanımlamaların yanında; antibiyotik ve bakteriyofajlara duyarlılıkları, asit ve aroma bileşikleri oluşturma kabiliyetleri, proteoliz kapasiteleri ve bakteriyosin üretme potansiyelleri, tuza toleransları, ekzopolisakkarit üretimleri gibi endüstriyel öneme sahip özelliklerin ayrıntılı olarak araştırılması starter kültür dizaynında göz önünde bulundurulması gereken kriterlerin başında gelmektedir (Thunell, 1986; Hebert vd., 2000; Tunail vd., 2002; Tunail ve Halkman 2005; Korkmaz, 2011).

4.1.1. Suşların tanımlanması

Yakın zamana kadar LAB'ın tanımlanması için fizyolojik veya biyokimyasal kriterlere dayanan fenotipik yöntemler kullanılmaktaydı. Ancak gelişen moleküler biyoloji teknikleriyle birlikte tanımlamada daha hızlı ve daha kesin sonuçlar alınmaya başlanmıştır. Günümüzde saflaştırılan LAB'ı tanımlamak için rRNA hibridizasyon problemleri ve çeşitli PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) teknikleri kullanılmaktadır (Ammor ve Mayo, 2007).

4.1.2. Asit üretim hızı ve yeteneği

Gıda fermantasyonunda karbonhidratlardan organik asit üretme, LAB'ın en önemli özelliklerinden biridir. Ortamda artan asitlik istenmeyen mikrobiyal floranın gelişmesini engelleyerek gıda güvenilirliğini ve raf ömrünü artırır (Ammor ve Mayo, 2007). Laktik asit, LAB tarafından en fazla üretilen organik asittir. Ayrıca heterofermantatif LAB türleri laktik asidin yanında asetik asit ve iz miktarda propiyonik asit de üretebilmektedir (Schnürer ve Magnusson, 2005). Bu organik asitler değişik düzeylerde antimikrobiyal etkiye sahiptir. Organik asitlerin antimikrobiyal aktivitelerinin düşük pH (< 5,0) değerlerinde daha yüksek olduğu ve bu aktivitenin çözünmeyen bileşiklerin fonksiyonları sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Çelikyurt ve Arıcı, 2008). Asetik asit ve propiyonik asidin laktik aside kıyasla pKa (asitlik sabitinin eksi logaritması) değerleri daha yüksektir ve bu nedenle belirli bir pH'da çözünmemiş asit oranı daha yüksektir (Schnürer ve Magnusson, 2005). Çeşitli çalışmalarda starter kültürlerden üretilen laktik, asetik ve propiyonik asidin aynı pH derecelerinde *Salmonella* spp, *Listeria Monocytogenes* ve diğer pek çok patojen mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etki sıralamasının propiyonik asit > asetik asit > laktik asit şeklinde olduğu bildirilmiştir (Çelikyurt ve Arıcı, 2008).

Fermente gıdalara laktik asidin bir diğer katkısı ürüne istenen duyuşsal ve yapısal özellikleri kazandırmasıdır. Ayrıca karbonhidrat metabolizması birçok fermente süt ürününde temel yapısal özelliklerin gelişmesini kontrol eden ekzopolisakkaritlerin sentezinde anahtar rol oynar. Tüm bu nedenlerle; asit üretme yeteneği, starter kültür olarak kullanılacak bakterilerin seçiminde önemli bir kriter olarak ele alınmaktadır (Durlu-Özkaya vd., 2001; Pérez vd., 2003; Narayanan vd., 2004; Özkalp, 2006).

4.1.3. Bakteriyosin üretimi

www.ejosat.com ISSN:2148-2683

LAB'ın gıdaları temel koruma mekanizması laktik asit üreterek pH'yı düşürmek olsa da, uzun zamandır çoğu LAB'ın bakteriyosin gibi bazı antimikrobiyal bileşikler ürettiği bilinmektedir (Tamime vd., 2006). LAB'dan elde edilen bakteriyosinler özellikle Gram (+) bakterilere karşı etkili olan antibakteriyel etki modüllerine sahip proteinlerdir (Carminati vd., 2010). Bakteriyosinler özellikle son 20 yıldır yoğun olarak çalışılmış ve pek çok deneysel çalışmada hayvan ve insan patojenlerine karşı etkili olarak, gıda güvenliğinin artırılmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Tamime vd., 2006).

Nisin gıda katkı maddesi olarak kabul edilmiş olan tek ve en önemli bakteriyosindir. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* tarafından üretilen nisin pek çok ülkede, patojen bakteri ve sporlarının gelişimini kontrol ederek gıdaların korunmasında kullanılmaktadır (McAuliffe vd., 2001; Kırmacı, 2010). *Lactococcus*'ların dışında *Lactobacillus* (*lactocin*), *Enterococcus* (*enterocin*), *Pediococcus* (*pediocin*) ve *Leuconostoc* (*leucocin*) cinsi üyesi bazı bakterilerin bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. Enterocin 4 sentezleyen *E. faecalis* INIA4'ün Manchego peynirinde kullanılması sonucu *L. monocytogenes* Ohio'yu inhibe ettiği rapor edilmiştir (Nunez vd., 1997; Cleveland vd., 2001). Fermente sosislerde ise *Pediocin* PA-1 bakteriyosini üreticisi olan *P. acidilactici*'nin starter kültür olarak kullanılması sonucu *L. monocytogenes*'in inhibe edildiği bildirilmiştir (Foegeding vd., 1992; Cleveland vd., 2001). Bu çalışmaların ışığında son yıllarda başta peynir ve yoğurt olmak üzere pek çok gıdanın fermantasyonu için seçilen starter kültürlerin bakteriyosin üretme yetenekleri bir kriter olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Bakteriyosin üretme yeteneğine sahip kültürler "koruyucu kültür" adı verilmektedir (Ross vd., 1999; Kırmacı, 2010).

4.1.4. Bakteriyofaj direnci

Bakteriyofajlar bakterilere saldırarak bakteri hücrelerini tahrip eden virüslerdir (Cogan vd., 2007). Laktik starter kültürler karşı fajların inhibe edici özelliği ilk kez 1935 yılında Whitehead ve Cox tarafından tanımlanmasının ardından yaklaşık 80 yıldır bilinmektedir (Carminati vd., 2010). Fajların ökaryotik hücrelere saldırdığına ve insan sağlığına risk oluşturduğuna dair bir veri bulunmamaktadır. Fajlarla ilgili problem ekonomik kayıplarla ilgilidir. Bakteriyofaj kontaminasyonu özellikle süt endüstrisinde ciddi ekonomik sorunlara neden olmaktadır. Bu problemin önemi, endüstrinin starter kültürlerin fajlara olan direncine verdiği önemden anlaşılabilir. Bir peynir starter kültürü için en önemli performans parametresi faj direnci olması ve fajlara karşı diğer kültürlerden farklı davranmasıdır. Peynir endüstrisinin faj saldırılarına diğer süt ürünlerine göre nispeten daha yüksek olan savunmasızlığı; kısa fermantasyon süresi, peynir teknelerinin tekrar tekrar kullanılması, peynir altı suyunun drenajı ve peynir altı suyunun fabrikada tutulma zorluğundan kaynaklanmaktadır (Hansen, 2014).

Diğer litik fajlar veya bakteriyel konak kromozomu ile mutasyon ve rekombinasyon günümüzde süt alanlarında yeni fajların sürekli ortaya çıkmasının nedeni olarak kabul edilmektedir (Brüssow ve Hendrix, 2002; Carminati vd., 2010). Buna ek olarak, ısıl işlemler sonucu hayatta kalabilen

faj kaynağı lizojenik starter kültürler faj popülasyonunun başlıca kaynaklarıdır (Moineau vd., 1996; Bruttin vd., 1997; Quiberoni vd., 1999; Binetti ve Reinheimer, 2000; Quiberoni vd., 2003; Sturino ve Klaenhammer, 2004; Capra vd., 2004; Suárez vd., 2008; Carminati vd., 2010). Dolayısıyla, süt işletmelerinde fajların bulunmasının kaçınılmaz olduğu düşünülürse, bunları ortadan kaldırmak yerine kontrol etmek için çeşitli stratejiler tasarlanmıştır (Moineau ve Lévesque 2005; Carminati vd., 2010). Kültür rotasyon programları, starter kültürün tanka doğrudan inoküle edilmesi, peynir altı suyunun dikkatli bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılması, sanitasyonun optimize edilmesi, fajlara direnç kazandırılmış starter kültürlerin kullanılması gibi uygulamalar süt fermantasyonunda fajların yayılımını engelleyebilecek yaklaşımlar arasında sayılabilir (Coffey ve Ross, 2002; Moineau vd., 2002; Sturino ve Klaenhammer, 2004; Carminati vd., 2010).

kültürleri içerdikleri mikroorganizma suşuna göre; tek suşlu kültürler, çok suşlu kültürler (aynı bakterinin farklı suşlarının beraber kullanıldığı kültürler) ve karışık kültürler (birden fazla bakteri türünün beraber kullanıldığı kültürler) olarak ayırmak mümkündür (Hansen, 2014).

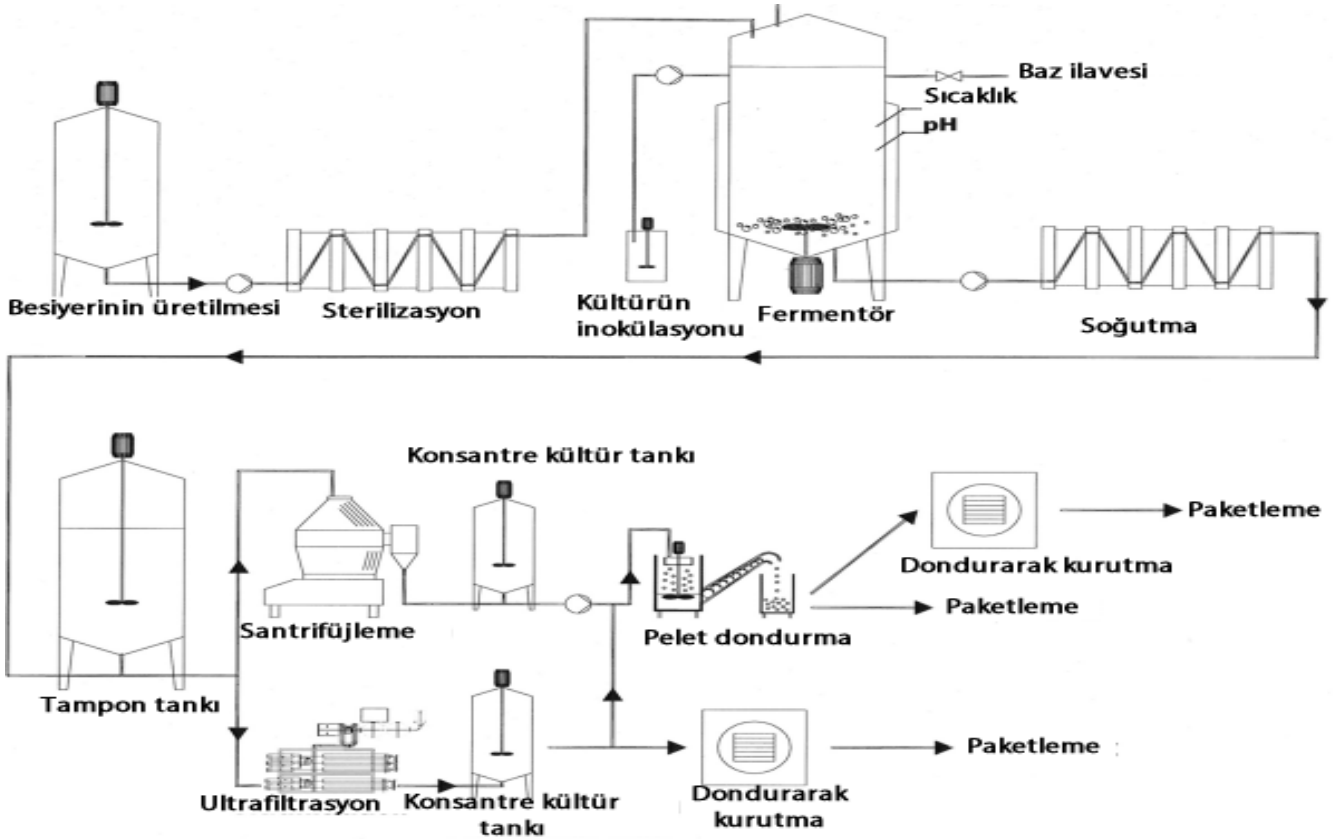
Üretim kurulum ölçeği, inokülasyon işleminin nasıl yürütüleceğine karar vermek için önemli bir faktördür. Büyük üretim tesislerindeki inokülasyonlarda zamanlama son derece kritiktir. Ayrıca büyük işletmelerde pek çok proses otomatiktir ve inokülasyonun da otomatikleştirilmesi gerekmektedir. Daha küçük işletmeler zamansal değişimlere daha toleranslı olabilir ve inokülasyon için otomasyona gerek olmayabilir. Ancak işletmenin ölçeğine bakılmaksızın, inokülasyonun büyüklüğü ile fermantasyon için gerekli süre arasında bir bağlantı vardır; inokülasyonun hacmini artırarak fermantasyon için gerekli zamanı azaltmak mümkündür veya fermantasyon süresini artırarak starter kültürden tasarruf etmek mümkündür (Hansen, 2014).

4.2. Starter kültürlerin inokülasyonu

Ticari starter kültürlerin fermente gıdaların üretiminde kullanılmasında inokülasyon işlemi standartlaştırılmıştır. Starter kültürler uzman üreticiler tarafından üretilir. Kültürün güvenliği, kompozisyonu ve performansının en iyi olması için titizlikle üretim yapılır. Ticari starter kültürlerin kullanılması, gıda üreticilerine üretim prosesini kontrol etme fırsatı verir. Böylece fermantasyonda oluşabilecek hataları minimize etmek mümkün olur. Ticari starter kültürler çoklu tür ve suşlardan oluşabileceği gibi tek bir saf suştan da oluşabilir. Starter

4.3. Ticari starter kültür üretim prosesi

Piyasada satılan kültürler; üretim yöntemlerine bağlı olarak sıvı, toz (püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş ve dondurarak kurutulmuş) ve dondurulmuş kültürler olmak üzere 3 temel formda üretilmektedir. Tipik bir starter kültür üretim şeması Şekil 1'de gösterilmiştir (Güven, 2008; Høier vd., 2010).



Şekil 1. Tipik bir starter kültür üretim akım şeması (Høier vd., 2010)

4.3.1. Sıvı starter kültür üretimi

Starter kültür üretimi başlangıçta yerel kültür üreticileri tarafından sağlanan sıvı kültürler kullanılarak süt ürünlerinde gerçekleştirilmiştir (Høier vd., 2010). Sıvı starter kültür eldesinde, uygun özelliklere sahip bakteriler genellikle yağsız süt tozundan hazırlanmış olan steril süte ekilerek inkübe edilmektedir. Bakteriler en yüksek seviyeye ulaştığında inkübasyona son verilmekte ve uygun ambalajlarda işletmelere gönderilmektedir. 1 ml kültürde 10⁹'a kadar canlı bakteri bulunabilmektedir. Bakterilerin aktivitelerini kaybetmemesi için 4 °C'de saklanması ve kısa sürede kullanılması gerekmektedir (Yaygın, 1988). Sıvı kültürlerin kullanımı kolaydır ve maliyeti düşüktür, ancak nispeten kısa bir raf ömrüne sahiptir. Sıvı bir kültürün raf ömrü birkaç günden birkaç haftaya kadardır (Hansen, 2014). Günümüzde sıvı kültürlerin yerini, büyük ölçüde, dondurulmuş veya toz starter kültürler almıştır.

4.3.2. Toz starter kültür üretimi

Kurutma işlemi püskürtmeli kurutucular yardımıyla veya dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi ile yapılır.

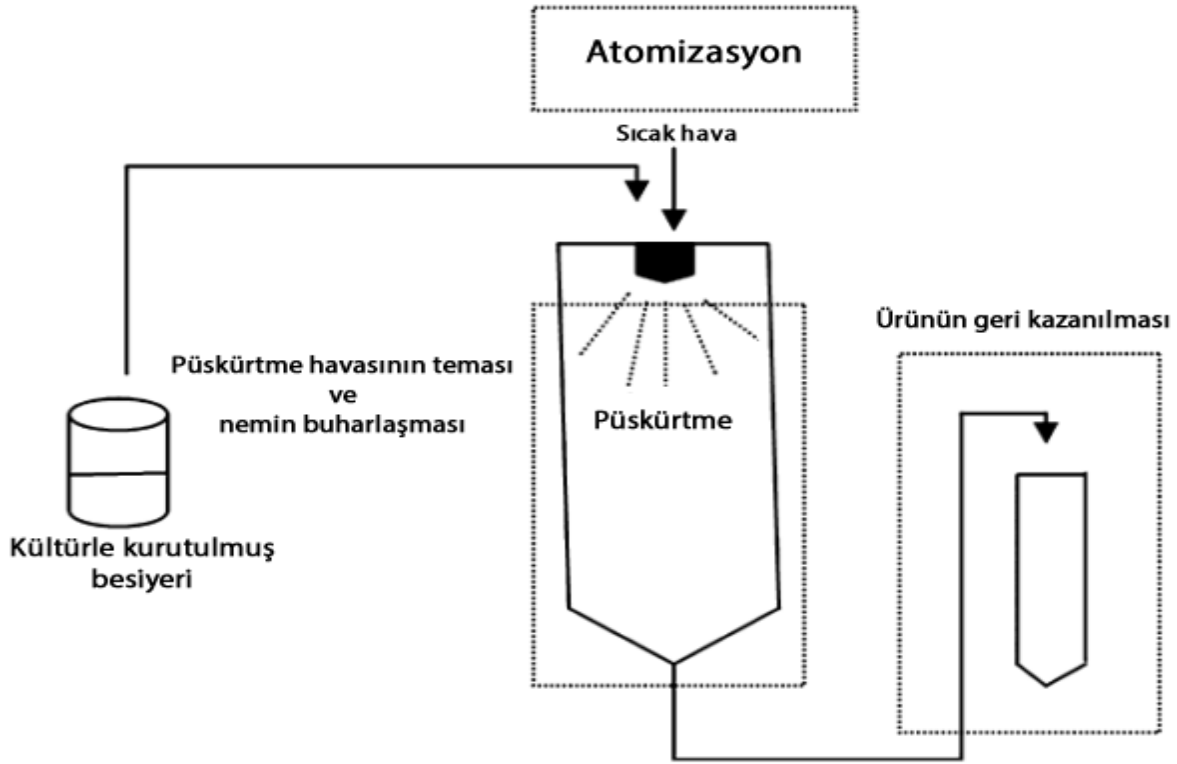
4.3.2.1. Püskürterek kurutma yöntemiyle starter kültür üretimi

Püskürterek kurutmanın, laktik asit ve probiyotik kültürler için iyi bir uzun süreli koruma yöntemi olduğu düşünülmektedir (Riveros vd., 2009; Peighambardoust vd., 2011). Mikroorganizmaları püskürterek kurutmanın geçmişi, Rogers'ın (1914) kurutulmuş laktik asit kültürleri üzerindeki çalışmalarına kadar uzanır. O zamandan bu yana, sıvı stok kültürlerinin stabil bir şekilde muhafaza edilmesindeki zorlukların üstesinden gelmek için hücre aktivitesini kaybetmeden bakterilerin püskürterek kurutulması üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. Püskürterek kurutma işleminin düşük maliyetli olması onu dondurarak kurutmaya kıyasla daha verimli yapmaktadır. Ancak yine de dondurarak kurutmaya göre mikrobiyal kültürlerin püskürterek kurutulması ticari olarak daha az uygulanmaktadır. Bunun sebepleri, esas olarak, depolamada daha düşük stabilite gözlenmesi ve ürünün rehidrasyonundaki zorluklardır (Teixeira vd., 1995; Mauriello vd., 1999; Boza vd., 2004; Ananta vd., 2005; Chávez ve Ledebøer, 2007; Peighambardoust vd., 2011). Püskürterek kurutulan mikroorganizmalarda hücresel canlılık, uygulanan işlem parametrelerine ve mikroorganizma türlerine göre değişiklik göstermektedir. *St. thermophilus*, aynı şartlar altında yapılan püskürterek kurutma işlemi sonucu, en iyi hücresel canlılık gözlenen starter kültürlerden birisidir. Hücresel canlılık bakımından *St. thermophilus*'u, *Lb. paracasei ssp. paracasei* takip etmektedir. *Lc. lactis ssp. cremoris*'in ise püskürterek kurutma sonucu en az hücresel canlılık gözlenen starter kültürlerden birisi olduğu bildirilmiştir. Corcoran vd.

(2004) 3 probiyotik laktobasil türünün ısıl dirençliliğini, yağsız rekonstitüe sütte (%20 w/v) araştırmışlardır. *Lb. rhamnosus* E800'ün ısıya en dirençli suş olduğu belirlenmiş ve bunu sırasıyla *Lb. salivarius* UCC 500 ve *Lb. rhamnosus* GG izlemiştir. İncelenen 3 adet laktobasil suşu arasında ısıya en hassas olanı *Lb. rhamnosus* GG olmasına rağmen, püskürterek kurutma işlemi sonucu bu 3 laktobasil türü içinde hücresel canlılığını en iyi koruyan suş *Lb. rhamnosus* GG olmuştur. Bu sonuç ısıl dirençliliğin hücresel canlılığı etkileyen tek etken olmadığını, dehidrasyona duyarlılık gibi diğer parametrelerin de hücresel canlılık oranını değiştirebildiğini göstermektedir (Corcoran vd., 2004). Püskürterek kurutulan starter kültürlerin hücresel canlılık ve stabiliteilerinin yanında, metabolik aktivitelerini ne oranda korudukları da önemlidir. Silva vd. (2002) püskürterek kurutulan *Lb. sakei* ve *Lb. salivarius* türlerinin seçili patojenlere karşı antagonistik aktivitesini kaybetmediğini rapor etmişlerdir. Riveros vd. (2009) püskürterek kurutmanın *Lb. acidophilus*'un peroksit üretme yeteneğini etkilemediğini, ayrıca morfolojisini ve probiyotik özelliklerini de önemli ölçüde etkilemediğini bildirmişlerdir. To ve Etzel (1997), püskürterek kurutmanın dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve dondurma işlemlerine kıyasla, *Lc. lactis ssp. cremoris* D11, *St. thermophilus* CH3TH ve *Lb. casei ssp. pseudoplantarum* UL137 suşlarının laktik asit üretimini önemli miktarda azalttığını tespit etmişlerdir. Püskürterek kurutulmuş starter kültürlerin lag fazının uzun olmasından ötürü, bu kültürlerin süt fermantasyonunda doğrudan inokülasyon için uygun olmadığı bildirilmektedir (Corcoran vd., 2004).

Püskürterek kurutma yöntemi temelde, sıvıyı yüksek hızda atomize ederek ve damlacıkları sıcak hava akışına (150-200 °C) püskürterek kuru bir toz üretilmesi esasına dayanır (Santivarangkna vd., 2007). Isı, genellikle ısıtılmış bir atmosfer şeklinde uygulanır ve sıvı bu atmosfere püskürtülerek buharlaşma sağlanır. Sıvı, yüksek hızdaki sıcak hava akımı ile temas ettirilerek çok hızlı bir şekilde kurutulan küçük damlacıklar halinde püskürtülür ve bu nedenle işlem oldukça kısa (0.5-3.0 s) sürer (Santivarangkna vd., 2007; Silva vd., 2011). Nem kontrolü ve dolayısıyla kuruma oranı, hava akışı ve sıcaklık düzenlemesiyle yapılır. Bazı durumlarda, alt katmanın inceliği, kurutulacak maddenin ilk önce nemden arındırılmasını ve daha sonra sadece atmosferik sıcaklıkların üzerindeki düşük sıcaklıklarda ısıtılmasını gerektirir. Bu, temel püskürterek kurutma konseptinin bir varyasyonudur ve düşük sıcaklıkta püskürterek kurutma yöntemi olarak adlandırılır (Masters, 1985; Silva vd., 2011). Bir başka varyasyonda, portakal suyu, kurutulmuş ürünün yapışkanlığının önlenmesi için nemsiz hava ve daha yüksek sıcaklıklar kullanarak, maltodekstrin varlığında kurutulmuştur (Goula ve Adamopoulos, 2010; Silva vd., 2011).

Püskürterek kurutma işlemi; atomizasyon, püskürtme havasının ürünle teması ve nemin buharlaştırılması ile sistemden çıkan havadaki ürünün geri kazanılması şeklinde 3 aşamaya ayrılabilir (Şekil 2) (Cal ve Sollohub, 2010; Silva vd., 2011).



Şekil 2. Püskürterek kurutmanın işlem basamakları (Silva vd., 2011)

Atomizasyon, bir sıvının milyonlarca ayrı damla halinde parçalanması işlemidir (Silva vd., 2011). Atomizasyon işlemi püskürterek kurutma prosesinin en önemli aşamasıdır. Sıvı parçacıklarının üretilmesi için kullanılan enerjinin türüne bağlı olarak atomizörler santrifüj, basınç, kinetik ve sonik olmak üzere dört kategoriye ayrılabilir (Barbosa-Cánovas vd., 2005; Peighambardoust vd., 2011). Bu atomizörlerin birbirlerine göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Atomizöre yapılan beslemenin yapısı ve viskozitesi ile kurutulmuş ürünün sahip olması istenen özelliklere göre atomizör seçilmelidir (Gharsallaoui vd., 2007; Peighambardoust vd., 2011).

4.3.2.2. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemiyle starter kültür üretimi

Dondurarak kurutmanın gıdalar ve mikroorganizmalar için değerli bir koruma yöntemi olduğu kabul edilir (Papavasiliou vd., 2008). Liyofilizasyon işlemi ana hatlarıyla, kültürün önce dondurulması, sonra süblimasyon ile su buharının uzaklaştırılması ilkesine dayanan bir kurutma yöntemidir. Liyofilizasyon işleminde starter kültürler önce -40 ile -60 °C sıcaklıklara dondurulmakta ve daha sonra 0,1-0,2 mmHg'den daha düşük bir basınç altında vakumda, kültürdeki donmuş haldeki su buharlaştırılarak ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Liyofilize kültürlerin ambalajlarındaki hava uzaklaştırıldığından ve kültürde az miktarda su bulunduğu için dolayı kültüre alınmış mikroorganizmalar canlılıklarını uzun süre koruyabilirler (Güven, 2008). Ayrıca liyofilize kültürlerin depolama stabilitesi çok iyidir. Bu kültürler orta derecedeki dondurma sıcaklıklarında

muhafaza edilebilirler (Hansen, 2014). Liyofilizasyon işlemi, hücrelerde kayıplara neden olduğundan, soğutma hızı ve kriyoprotektif ajanlar gibi faktörler, hücrelerin canlılığı açısından kritik öneme sahiptir (Benri ve Hennebert, 1991; Gehrke vd., 1992; Papavasiliou vd., 2008). Canlılık oranını yüksek tutabilmek için; kültürlerin dondurulmadan önce süt-bazlı besiyerine yayılması (pH 6,0-6,5) ve daha sonra katkı maddeleri (askorbik asit, monosodyum glutamat, aspartat vb.) ile kriyoprotektif ajanların (glukoz, maltoz, sükröz, mısır şurubu, mannitol, sorbitol vb.) ortama eklenmesi önerilir (Tamime, 2002).

Hüresel canlılık ile ilgili olarak, dondurarak kurutma yöntemi ile püskürterek kurutma yöntemlerinin karşılaştırılmasına dair bilgi sınırlı ve tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar dondurarak kurutma işlemi sonrası yüksek hüresel canlılık bildirdiler (Fu ve Etzel, 1995; Costa vd., 2002; Wang vd., 2004; Corcoran vd., 2006; Silva vd., 2011), bazı araştırmacılar ise bu iki kurutma yöntemi arasında anlamlı bir fark bulamamıştır (Kim ve Bhowmik, 1990; Teixeira vd., 1995; Zamora vd., 2006; Chávez ve Ledebøer, 2007; Silva vd., 2011). İspanya'da kesimhanelerden toplanan domuz kanından izole edilen 12 adet LAB suşunun (*Lc. garviae* PS12, *Lc. garviae* PS22, *Lc. garviae* PS23, *Lc. garviae* PS48, *Lc. garviae* PS95, *Lc. garviae* PS60; *E. raffinosus* PS7, *E. raffinosus* PS99; *Lb. murinus* PS85, *Lb. murinus* PS86, *Lb. murinus* PS87; *Lb. reuteri* PS77) dondurarak kurutma sonucu canlılık oranları incelenmiştir. Aynı şartlar altında dondurarak kurutulmuş LAB kültürlerinin dehidrasyondan hemen sonra canlılıkları araştırıldığında *Lc. garviae* PS14, *Lc. garviae* PS23, *Lc. garviae* PS60, *Lc. garviae* PS95, *Lb. murinus* PS86 ve *E. raffinosus* PS99 suşlarının canlılıklarını çok iyi (%100) koruduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ilginç şekilde aynı türün suşlarında bile çok farklı sonuçlar ortaya

çıkıştır. *Lc. garviae* PS22 (%3,3) ve *Lc. garviae* PS48 (%3,9) düşük hücresele canlılık gözlenen suşlar olarak belirlenmiştir (Zamora vd., 2006). Bu veriler ışığında püskürterek kurutma ve dondurarak kurutma işlemleri sonucu canlılığın türlere ve suşlara bağlı olduğu düşünülmektedir (Kim ve Bhowmik, 1990; Zamora vd., 2006; Silva vd., 2011).

Liyofilizasyonun, püskürterek kurutmaya göre bazı önemli dezavantajları bulunmaktadır. Liyofilizasyon işleminde suyun buharlaşması için daha fazla enerji ve zaman harcanır. Aynı zamanda dondurarak kurutma tesisinin yatırım maliyeti de daha yüksektir (Prajapati vd., 1987; Zamora vd., 2006; Santivarangkna vd., 2007; Silva vd., 2011).

Dezavantajlı yanları olmasına rağmen liyofilizasyon yöntemi yaygın kullanılan bir yöntemdir ve ticari olarak çeşitli liyofilize kültürler mevcuttur (Tamime, 1981; Santivarangkna vd., 2007; Silva vd., 2011). Bunlardan en çok kullanılanları normal liyofilize kültürler ve konsantre liyofilize kültürlerdir. Normal liyofilize kültürlerde sıvı kültür, özel bir işlem görmeden doğrudan liyofilize edilir. Konsantre liyofilize kültür üretiminde ise sıvı kültür santrifüjlendikten sonra liyofilizatörde toz haline getirilir. Konsantre liyofilize kültürler normal liyofilize kültürlerle göre daha fazla canlı mikroorganizma içerir. Konsantre liyofilize kültürler peynir ve yoğurda işlenecek süte doğrudan katıldığı ve işletme kültürü hazırlanmasında kullanıldığı için, zaman ve işçilikten tasarruf sağlar. Ancak bu tip kültürlerin maliyeti daha yüksektir (Güven, 2008).

4.3.3. Dondurulmuş starter kültür üretimi

Starter kültürler aynı zamanda dondurulmuş olarak da üretilebilir. Dondurulmuş kültürler depolama süresince oldukça stabildir, optimum şartlar altında saklanırsa yıllarca canlı kalabilir. Dondurulmuş kültürlerin dezavantajı ise sevkiyatının kuru buz ile olması ve bu nedenle nispeten pahalı olmasıdır (Hansen, 2014).

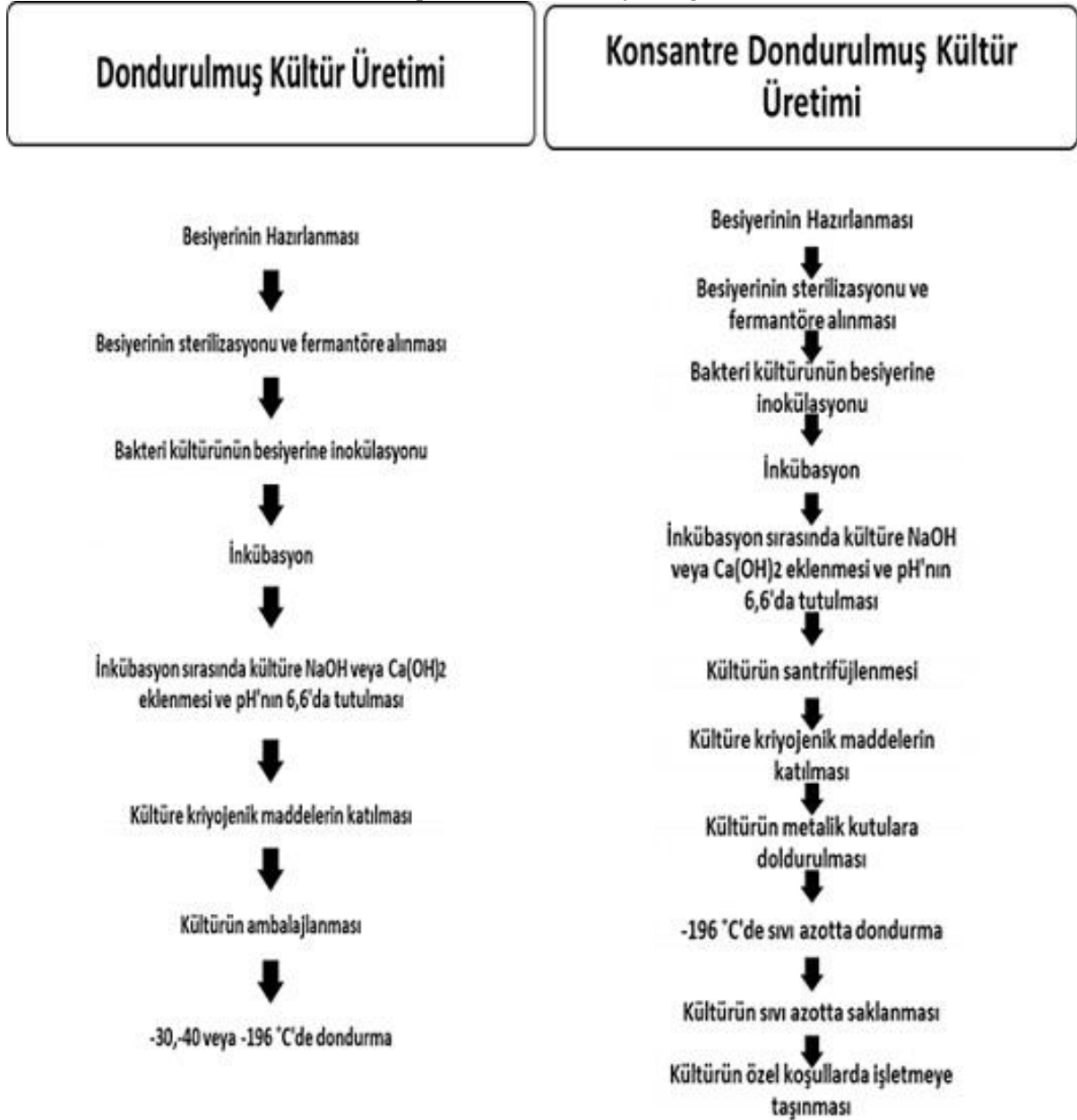
Starter kültürlerin dondurulmasında genellikle 2 farklı yol izlenir (Tamime, 2002):

- ❖ Derin/sıfırın altındaki sıcaklıklarda (-20, -80 °C aralığında) dondurma (Normal Dondurma Yöntemi)
- ❖ Sıvı azotta -196 °C'de, ultra düşük sıcaklıklarda dondurma (Konsantre Dondurma Yöntemi) (Tamime, 2002).

Normal dondurma yönteminde aktif bir starter kültürün inoküle edildiği steril süt, -30, -40 °C'ye dondurularak ana kültür olarak saklanır. Bu şekilde saklanan kültürler canlılıklarını birkaç ay koruyabilmektedir. Bu yöntemle üretilen kültürler laboratuvarlarda üretilerek, ihtiyaç halinde kuru buz içinde süt ürünleri işletmelerine gönderilir (Tamime, 2002).

-40 °C'de dondurma ve uzun süre saklama sonucu starter kültür aktivitesinde değişiklikler meydana gelebilir. Ancak kültürlerin besiyerlerinde belirli oranlarda yağsız süt, sükröz, taze krema, NaCl₂ veya jelatin gibi maddeler kullanılırsa daha yüksek canlılık oranı gözlenebilmektedir (Imai ve Kato, 1975; Tamime, 2002). Buna ek olarak -30 °C'de dondurulmuş ve çeşitli kriyojenik bileşiklerin (sodyum sitrat, sodyum-β-gliserofosfat, gliserol, yağsız süt, maya ekstraktı, sükröz, krema, pepton, laktoz gibi) karışımında tutulan konsantre mezofilik LAB hücrelerinin (10¹¹-10¹² cfu ml⁻¹) çok iyi korunduğu belirlenmiştir (Barbour ve Priest, 1986; Oberman vd., 1986; Toyoda vd., 1988; de Antoni vd., 1989; Tamime, 1990; Abraham vd., 1990; Zlotowska ve Ilnicka-Olejniczak, 1993; Fonseca vd., 2000; Tamime, 2002). Probiyotik LAB kültürlerinin dondurulmasına yönelik yapılan çalışmalarda; Bâati vd. (2000) dondurma işlemi sonucu, sıcaklığa ve süspansiyon ortamına bağlı olarak, *Lb. acidophilus*'un %24 ile %89 arasında canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, *Lb. acidophilus*'un doğrudan -80 °C'ye dondurulması sonucu canlılık oranı %42,65 olarak bulunmasına karşın, sıcaklığın yavaş yavaş azaltılması sonucu (sırasıyla 37, 20, -4, -20, -80 °C) yapılan dondurma işleminde canlılığın %74'e çıktığı belirlenmiştir. En çok hücre ölümünün ise -4 °C ile -20 °C arasında gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışmanın yazarları tarafından dondurma işlemi öncesi yapılacak olan bir ön-dondurma işleminin canlılığın artışında önemli olduğu vurgulanmıştır (Bâati vd., 2000; Béal ve Fonseca, 2015). Bir başka çalışmada *Lb. rhamnosus*'un 6 süşunun 3 farklı koruyucu ortamda (yağsız süt, yağsız süt+glukoz, MRS besiyeri+gliserol) -20 ve -80 °C'de dondurulması ve 90 günlük depolanması sonucu, sıcaklık, suş ve süspansiyona bağlı olarak, %84 ile %97 arasında canlılığın korunduğu tespit edilmiştir. Yağsız sütün, -80 °C'de en iyi koruyucu ajan olduğu bildirilmiştir (Succi vd., 2007; Beal ve Fonseca, 2015).

Normal dondurularak üretilen kültürler peynir ve fermente süt ürünlerinin üretiminde yerini tanklara doğrudan inokülasyonun yapılmasına imkan tanıyan ve normal dondurulmuş kültürlerle göre avantajlı yönleri olan konsantre dondurulmuş kültür üretimine bırakmıştır (Tamime, 2002). Konsantre dondurulmuş kültürler, sıvı bakteri kültürlerinin santrifüjden geçirilerek konsantrasyonlarının artırılması ve -196 °C'de sıvı azotta dondurulmasıyla üretilir (Şekil 3). Starter kültürleri -196 °C'de sıvı azotta dondurma işleminin, dondurma yöntemleri arasındaki en iyi sonucu verdiği düşünülmektedir. Konsantre dondurulmuş kültürler dondurulmuş kültürlerle göre daha stabildir. Ayrıca kullanımları da daha kolaydır. Ancak işletmeler için maliyeti daha fazladır (Tamime, 2002; Güven, 2008).



Şekil 3. Dondurulmuş ve konsantre dondurulmuş kültür üretim şemaları (Yaygın ve Kılıç, 1993; Güven, 2008)

5. Sonuç

Yoğurt, peynir, kefir, sucuk, boza, sirke ve turşu gibi ülkemizde çok tüketilen gıdalar mikrobiyal faaliyetler sonucunda üretilen fermente gıdalardır. Bu ürünler geleneksel yöntemlerle üretilebileceği gibi kontrollü koşullar altında seçilmiş mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu da üretilir. Starter kültürler, kontrollü şartlarda standart kalitede güvenilir ürünler elde etmek için gıda sanayiinde kullanılan mikroorganizmalardır.

Artan nüfus, kırsaldan kente göç ve sanayileşme gibi faktörler endüstriyel gıda üretimini kaçınılmaz kılmıştır. Endüstriyel ölçekte fermente gıda üretiminde kaliteyi her zaman aynı ölçüde koruyabilmek geleneksel yöntemlerle mümkün değildir. Bu amaçla, fermente gıda üretiminde hem standartlaşmaya hem de kalite kontrolüne olanak tanıyan starter kültürlerin kullanılması bir zaruriyettir.

Pek çok geleneksel fermente gıdaya sahip olan ülkemizde bu gıdaların üretiminde kullanılan starter kültürlerin üretimi yapılmamaktadır. Yurt dışından satın alınan starter kültürler ise hem ülke insanının damak tadına hitap etmemekte hem de büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenlerle ülkemiz geleneksel gıdalarından elde edilen starter kültürlerin endüstriyel boyutta üretimini sağlayacak, ülkemizin rekabet gücünü artıracak ve katma değer sağlayacak projeler geliştirilerek bu sorun ortadan kaldırılmalıdır.

Kaynaklar

- Altieri, C., Ciuffreda, E., Maggio, D.B. ve Sinigaglia, M., 2016. Lactic Acid Bacteria As Starter Cultures. Starter Cultures in Food Production, Edited by Barbara Speranza, Antonio Bevilacqua, Maria Rosaria Corbo, Milena Sinigaglia. Wiley Blackwell Publishing, p.1-15.
- Ammor, M.S., ve Mayo, B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. Meat Science 76:138-146.

- Ananta, E., Volkert, M. ve Knorr D., 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. International Dairy Journal 15:399-409.
- Bâati, L., Fabre-Gea, C., Auriol, D. ve Blanc, P.J., 2000. Study of the cryotolerance of *Lactobacillus acidophilus*: effect of culture and freezing conditions on the viability and cellular protein levels. International Journal of Food Microbiology, 59(3): 241-247.
- Bachmann, H., Pronk, J.T., Kleerebezem, M. ve Teusink, B., 2015. Evolutionary engineering to enhance starter culture performance in food fermentations. Current Opinion in Biotechnology, 32:1-7.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P. ve Yan, H., 2005. Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Barbour, E.A. ve Priest, F.G., 1986. Lett. Appl. Microbiol., 2:69-71.
- Béal, C., ve Fonseca, F., 2015. Freezing of Probiotic Bacteria. Advances in Probiotic Technology, Edited by Petra Foerst ve Chalal Santivarangkna, p.179-212.
- Berni, J.-F. ve Hennebert, G.L., 1991. Viability and stability of yeast cells and filamentous fungus spores during freeze-drying: Effects of protectants and cooling rates. Mycologia, 83:805-815.
- Binetti, A.G. ve Reinheimer, J.A., 2000. Thermal and chemical inactivation of indigenous *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from Argentinian dairy plants. J Food Prot 63:509-515.
- Blandio, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. ve Webb, C., 2003. Cereal-Based Fermented Foods and Beverages. Food Research International, 36:527-543.
- Boza, Y., Barbin, D. ve Scamparini, A.R.P., 2004. Effect of spray drying on the quality of encapsulated cells of *Beijerinckia* spp. Process Biochemistry, 39:1275-1284.
- Bruttin, A., Desiere, F., Lucchini, S., Foley, S. ve Brüssow, H., 1997. Characterization of the lysogeny DNA module from the temperate *Streptococcus thermophilus* bacteriophage Sfi 21. Virology 233:136-148.
- Brüssow, H. ve Hendrix, R.W., 2002. Phage genomics: Small is beautiful. Cell, 108:13-16.
- Cal., K. ve Sollohub, K., 2010. Spray drying technique. I: hardware and process parameters. Journal of Pharmaceutical Sciences, 99:575-586.
- Capra, M.L., Quiberoni, A. ve Reinheimer, J., 2004. Thermal and chemical resistance of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* bacteriophages. Lett Appl Microbiol, 38:499-504.
- Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez ve V., Reinheimer, J., 2010. Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications Edited by Fernanda Mozzi, Raúl R. Raya and Graciela M. Vignolo Blackwell Publishing, p.177-192.
- Chávez, B.E. ve Ledebor, A.M., 2007. Drying of probiotics: optimization of formulation and process to enhance storage survival. Drying Technology, 25:1193-2007.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. ve Chinkindas, M.L., 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. International Journal of Food Microbiology, 71: 1-20.
- Coffey, A. ve Ross, R.P., 2002. Bacteriophage-resistance systems in dairy starter strains: Molecular analysis to application. Antonie van Leeuwenhoek, 82:303-321.
- Cogan, T.M., Beresford, T.P., Steele, J., Broadbent, J., Shah, N.P. ve Ustunol, Z., 2007. Invited Review: Advances in Starter Cultures and Cultured Foods. Journal of Dairy Science, 90:4005-4021. doi:10.3168/jds.2006-765.
- Corcoran, B. M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., ve Stanton, C., 2004. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. Journal of Applied Microbiology, 96, 1024-1039.
- Corcoran, B., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Dockery, P. ve Stanton, C., 2006. Enhanced survival of GroESL-overproducing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 under stressful conditions induced by drying. Applied and Environmental Microbiology, 72:5104-5107.
- Costa, E., Usall, J., Teixido, N., Usall, J., Fons, E., Gimeno, V., Delgado, J., ve Vinas, I., 2002. Survival of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 in a spray-drying process. Journal of Food Protection, 65:185-191.
- Çelikyurt, G., ve Arıcı, M., 2008. Gıda Koruyucusu Olarak Mikrobiyal Kaynaklı Organik Asitler ve Önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, s.1023-1026.
- Darsanaki, R.K., Aliabadi, M.A. ve Chakoosari, M.M.D., 2013. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria. Scientific Journal of Microbiology, 2(11): 201-206.
- de Antoni, G.L., Perez, P.F., Abraham, A.G. ve Aiiion, M.C., 1989. Cryobiology, 26:149-153.
- Demirgül, F., Tuncer, Y., 2017. Detection of Antibiotic Resistance and Resistance Genes in Enterococci Isolated from Sucuk, a Traditional Turkish Dry-Fermented Sausage. Korean J Food Sci Anim Resour., 37(5):670-681. doi: 10.5851/kosfa.2017.37.5.670.
- Durlu-Özkaya, F., 2001. Salamura Beyaz Peynirden İzole Edilen Bazı Laktokok, Enterokok ve Laktobasil Suslarının Proteolitik Aktivite, Bakteriyosin Etkenliği ve Biyojen Amin Oluşumu Açısından Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Foegeding, P.M., Thomas, A.B., Pilkington, D.H. ve Klaenhammer, T.R., 1992. Enhanced control of *Listeria monocytogenes* by in situ-produced pediocin during dry fermented sausage production (published erratum appears in Appl. Environ. Microbiol. 1992, Jun; 58(6): 2102). Appl. Environ. Microbiol., 58:884-890.
- Fu W.Y. ve Etzel M.R., 1995. Spray-drying of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* C2 and cellular injury. Journal of Food Science, 60:195-200.
- Gehrke, H.-H., Pralle, K., ve Decker, W.-D., 1992. Freeze-drying of microorganisms-influence of cooling rate on survival. Food Biotechnology, 6:35-49.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. ve Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. Food Research International, 40:1107-1121.
- Goula, A.M. ve Adamopoulos, K.G., 2010. A New Technique For Spray Drying Orange Juice Concentrate. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol.11, Issue 2, p.342-351.
- Güven, M.N., 2008. Starter Kültür (Saf Kültür) Üretim İşletmesi Dizaynı ve Fizibilite Raporu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 82s, İzmir.
- Hansen, E.B., 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. International Journal of Food Microbiology, 78:119-131.
- Hansen, E.B., 2014. Starter Cultures: Uses in the Food Industry. Encyclopedia of Food Microbiology, Volume 3. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00320-7>.
- Hebert, E.M., Raya, R.R., Tailliez, P. ve Giori, G.S., 2000. Characterization of natural isolates of *Lactobacillus* strains to

- be used as starter cultures in dairy fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 59; pp. 19-27.
- Høier, E., Janzen, T., Rattray, F., Sørensen, K., Børsting, M.W., Brockmann, E. ve Johansen, E., 2010. The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. *Technology of Cheesemaking*, Second Edition Edited by Barry A. Law and A.Y. Tamime, p.166-192.
- Imai, M., ve Kato, M., 1975. *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 49:93-98.
- Kırmacı, H.A., 2010. Geleneksel Urfa Peynirinde Yer Alan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Moleküler Karakterizasyonu ve Starter Kültür Olarak Kullanım Olanakları. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 152s., Şanlıurfa.
- Kim, S.S. ve Bhowmik, S.R., 1990. Survival of lactic acid bacteria during spray drying of plain yoghurt. *Journal of Food Science*, 55:1008-1010.
- Korkmaz, A.G., 2011. Yoğurt ve Peynir İçin Starter Kültür Üretimi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 73s., Ankara.
- Leroy, F. ve Vuyst, D.L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15:67-78.
- Masters, K., 1985. Analytical methods and properties of dried dairy products. In *Evaporation, Membrane Filtration and Spray-drying in Milk Powder and Cheese Production*, p.393-403. Hansen R, ed. Vanlose: North European Dairy Journal.
- Mathur, S. ve Singh, R., 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105:281-295.
- Mauriello, G, Aponte, M, Andolfi, R., Moschetti, G. ve Villani, F., 1999. Spraydrying of bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection* 62:773-777.
- Mcauliffe, O., Hill, C. ve Ross, R. P., 2001. Lantibiotics: Structure, Biosynthesis and Mode Of Action. *Fems Microbiology*, 25:285-308.
- Moineau, S., Borkaev, M., Holler, B.J., Walker, S.A., Kondo, J.K., Vedamuthu, E.R. ve Vandenberg, P.A., 1996. Isolation ve characterization of lactococcal bacteriophages from cultured buttermilk plants in United States. *J Dairy Sci*, 79:2104-2111.
- Moineau, S., Tremblay, D. ve Labrie, S., 2002. Phages of Lactic Acid Bacteria: From Genomics to Industrial Applications. *ASM News* 68:388-393.
- Moineau, S., ve Lévesque, C., 2005. Control of bacteriophages in industrial fermentations. In *Bacteriophages: Biology and Applications*, ed. E. Kutter ve A. Sulakvelidze, 285-296. Boca Raton, FL:CRC Press.
- Narayanan, N., Roychoudhury, P.K. ve Srivastava, A., 2004. L(+) Lactic Acid Fermentation and its Product Polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology [Online]*, 7(2).
- Nunez, M., Rodriguez, J.L., Garcia, E., Gaya, P., Medina, M., 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by enterocin 4 during the manufacture and ripening of Manchego cheese. *J. Appl. Microbiol.* 83:671-677.
- Oberman, L., Libudzisz, Z. ve Piatkiewicz, A., 1986. *Nahrung*, 30:147-154.
- Özkalp, B., 2006. Doğal Tip *Lactococcus Lactis* Suşlarının Endüstriyel Starter Kültür Potansiyellerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 101s., Ankara.
- Papavasiliou, G., Kourkoutas, Y., Rapti, A., Sipsas, V., Soupioni, M. ve Koutinas, A.A., 2008. Production of freeze-dried kefir culture using whey. *International Dairy Journal* 18:247-254.
- Peighamardoust, S.H., Golshan Tafti, A. ve Hesari, J., 2011. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Science & Technology* 22:215-224.
- Pérez, G., Cardell, E. ve Zárata, V., 2003. Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria From Tenerife Cheese. *International Journal Of Food Science And Technology*, 38; 537-546.
- Prajapati, J.B., Shah, R.K. ve Dave, J.M., 1987. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in blended-spray dried acidophilus preparations. *Australian Journal of Dairy Technology*, 42:17-21.
- Quiberoni, A., Guglielmotti, D.M. ve Reinheimer, J.A., 2003. Inactivation of *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophages by heat ve biocides. *Int J Food Microbiol* 84, 51-62.
- Quiberoni, A., Suárez, V.B. ve Reinheimer, J.A., 1999. Inactivation of *Lactobacillus helveticus* bacteriophages by thermal and chemical treatments. *Journal of Food Protection*, 62(8): 894-898.
- Riveros, B., Ferrer, J., ve Bo'rquez, R., 2009. Spray drying of a vaginal probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus*. *Drying Technology* 27:123-132.
- Rogers, L.A., 1914. The preparation of dried cultures. *The Journal of Infectious Disease*, 14:100-123.
- Ross, R.P., Galvin, M., McAuliffe O., Morgan, S. F., Ryan, M.P., Twomey, D.P., Meaney, W.J. ve Hill, C., 1999. Developing Applications for Lactococcal Bacteriocins. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76:337-346.
- Santivarangkna, C., Kulozik, U. Ve Foerst, P., 2007. Alternative Drying Processes for the Industrial Preservation of Lactic Acid Starter Cultures. *Biotechnol. Prog.*, 23:302-315.
- Schnürer, J., ve Magnusson, J., 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology* 16:70-78.
- Silva, J., Carvalho, A. S., Teixeira, P., ve Gibbs, P. A., 2002. Bacteriocin production by spray-dried lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 34, 77-81.
- Silva, J., Frexio, R., Gibbs, P. ve Teixeira, P., 2011. Spray-drying for the production of dried cultures. *International Journal of Dairy Technology*, Vol 64, No 3.
- Sturino, J., ve Klaenhammer, T., 2004. Bacteriophage defense systems ve strategies for lactic acid bacteria. *Adv Appl Microbiol.*, 56:331-378.
- Suárez, V., Zago, M., Quiberoni, A., Carminati, D., Giraffa, G. ve Reinheimer, J., 2008. Lysogeny in *Lactobacillus delbrueckii* strains and characterization of two new temperate prolate-headed bacteriophages. *J Appl Microbiol.*, 105:1402-1411.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E. ve Coppola, R., 2007. Preservation by freezing of potentially probiotic strains of *Lactobacillus rhamnosus*. *Annals of Microbiology*, 57(4): 537-544.
- Tamime A.Y., 1981. Microbiology of 'starter cultures'. In *Dairy Microbiology*, Vol II, p.113. Robinson R K, ed. New York: Pergamon Press.
- Tamime, A.Y., 1990. Microbiology of starter cultures. In *Dairy Microbiology*, Vol. 2, 2nd ed., R.K., Robinson, ed., Elsevier Applied Science, London. pp.131-201.
- Tamime, A.Y., 2002. Microbiology of Starter Cultures. *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products*, 3rd Edition. Edited by Richard K. Robinson, p.261-366.
- Tamime, A.Y., Skriver, A. ve Nilsson, L.E., 2006. Starter Cultures. *Fermented Milks*, Edited by Dr Adnan Tamime, p.11-52.

- Teixeira, P., 1995. Investigation into Sites of Injury and Mechanisms of Repair in Lactic Acid Bacteria Following Spray Drying. PhD thesis. Escola Superior de Biotecnologia, Portugal.
- Thunell, R.K., 1986. DSS cultures and thermolactic media: application in Italian cheese manufacture. pp. 53, In Proc. 23rd Annu. Marschall Products-Miles Laboratories Inc., Madison, WI.
- To, B. C. S., ve Etzel, M. R., 1997. Spray drying, freeze drying, or freezing of three different lactic acid bacteria species. Journal of Food Science, 62, 576-578, 585.
- Toyoda, S., Oki, Y. ve Yoshioka, Y., 1988. Dairy Sci. Abstr., 50, 284.
- Tunail, N., Ayhan, K., Akçelik, M. Durlu-Özkaya, F., Dogan, H.B., Kaleli, D., Tükel, Ç. ve Acar, E., 2002. Yoğurt fabrikalarında faj probleminin çözümüne yönelik araştırmalar. Tübitak/TARP-2106 No'lu Proje.
- Wang, G. ve Doyle, M.P., 1998. Heat shock response enhances acid tolerance of *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology, 26:31-34.
- Whitehead, H.R., ve Cox, G.A., 1935. The occurrence of bacteriophage in cultures of lactic streptococci, a preliminary note. N. Z. J. Sci Technol 16, 319.
- Yaygın, H. ve Kılıç, S., 1993. Süt Endüstrisinde Saf Kültür, İzmir, 108s.
- Yaygın, H., 1988. Süt Endüstrisinde Konsantre Dondurulmuş Starter Kültür. GIDA, 13(2): 93-98.
- Yücel Şengün, İ., 2011. Lactic acid bacteria used in the production of fermented foods. Biological Diversity and Conservation, 4/1, 42-53.
- Zamora, L., M., Carretero, C. ve Pare's, D., 2006. Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray-drying an freeze-drying. Food Science and Technology International 12:77-84.