

Süt Ürünlerinde Probiyotik Bakterilerin Canlılığını Etkileyen Faktörler

Ash ÇELİKEL¹, Büşra GÖNCÜ², Mutlu Buket AKIN³, M. Serdar AKIN⁴

¹Mardin Artuklu Üniversitesi Turizm İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, MARDİN, ²Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ŞANLIURFA, ³Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ŞANLIURFA. ⁴Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ŞANLIURFA

Mardin.aslicelikel@artuklu.edu.tr, busragoncu@harran.edu.tr, mutluakin@harran.edu.tr, sakin@harran.edu.tr

Geliş Tarihi/Received:

21.03.2018

Kabul Tarihi/Accepted:

07.06.2018

Yayın Tarihi/Published:

27.06.2018

ÖZ

Probiyotikler; canlılarda sindirim sistemi mikroflorasını geliştirerek sağlık üzerine olumlu etkileri olan mikroorganizmalardır. Bunların başlıcaları *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (*Bifidobacterium BB12*)'dir. Bu bakterilerin sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı dondurma, peynir ve yoğurt gibi süt ürünlerinde kullanımları son yıllarda artış göstermiştir. Sağlık üzerine olumlu etki gösterebilmesi için canlı probiyotik bakteri sayısının yüksek olması gerekir. Probiyotikler gıdalar üzerine yapılan çalışmalarda depolama sırasında ürünlerdeki probiyotik bakteri sayısının hızlı bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların gıdalardaki canlılıklarına etki eden bir çok faktör bulunmaktadır. Bunlardan bazıları bakteri türleri arasındaki etkileşim, inokülasyon süresi, ürünün asitliği, depolama sıcaklığı, ambalajın oksijen geçirgenliği, ürünlerdeki diğer starter bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyel maddelerdir. Canlı probiyotik bakteri sayısı aside ve safraya dayanıklı suşların seçilmesi, ambalajın oksijen geçirgenliğinin azaltılması, iki aşamalı fermantasyon uygulaması, mikroenkapsülasyon uygulamaları, stres koşullarına adaptasyon ve mikro besin elementleri ilavesi gibi yöntemlerle artırılabilir. Bu derlemede, süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörler ve bu faktörleri engellemeye yönelik yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik bakteriler, canlılık, süt ürünleri.

The Factors Affecting Viability of Probiotic Bacteria In Dairy Products

ABSTRACT

Probiotics; are microorganisms that have positive effects on health by improving digestive system microflora in living organisms. These are mainly *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (*Bifidobacterium BB12*). Due to the positive effects of these bacteria on health, their use in dairy products such as ice cream, cheese and yoghurt milk has increased in recent years. The number of live probiotic bacteria must be high enough to have a positive effect on health. Studies on probiotics foods have shown that the number of probiotic bacteria in the product drops rapidly during storage. There are many factors that affect the viability of probiotic microorganisms in the product. Some of these are antimicrobials produced by other starter bacteria in the market, such as interaction between bacterial species, the duration of inoculation, acidity of the product, storage temperature, oxygen permeability of the packaging. The number of live probiotic bacteria can be increased by methods such as selection of acid and bile resistant strains, reduction of oxygen permeability of the package, application of two step fermentation, application of microencapsulation, adaptation to stress conditions and addition of micronutrients. In this review, the factors affecting the viability of probiotic bacteria in dairy products and the studies conducted to prevent these factors have been examined.

Keywords: Probiotic bacteria, viability, dairy products.

1. GİRİŞ

Yunanca “yaşam için” anlamına gelen probiyotik kelimesi, geçen uzun zaman boyunca farklı anlamlarda kullanılmıştır. Günümüzde probiyotikler, sindirim sistemi mikroflorasını geliştirerek

konakçının sağlığı üzerine yararlı etkiler sunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Holzapfel vd., 1998:85).

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerinde gösterdikleri başlıca yararları; gastrointestinal enfeksiyonları kontrol etmesi, antimikrobiyal etki göstermesi, böbrek rahatsızlıklarını gidermesi, β -galaktosidaz gibi önemli sindirim enzimlerinin üretimi ile birlikte vücutta laktoz kullanımını arttırması, serum kolesterol düzeyini azaltması, antimitojenik ve kolon kanserinin önlenmesi gibi bazı antikanserojenik aktiviteler göstermesi, bağışıklık sistemini düzenleyici özellikler sergilemesi, antialerjik fonksiyonlara sahip olması, besin öğelerinin biyolojik değerini arttırması, vitamin üretimini arttırması, mineral ve iz elementlerden yararlanımını arttırması ve serum kolesterol seviyesini düşürmesi şeklinde sıralanabilir (Tuohy vd., 2003:692; Uymaz,2010: 95).

Probiyotik bakterilerin gıdada canlılığını koruması büyük önem taşımaya karşın, yapılan çeşitli çalışmalar bakterilerin ürünün raf ömrü süresince belli düzeylerde canlılığını yitirdiğine işaret etmektedir (Krasaekoopt vd., 2003:3; Amal Bakr Shori, 2017:1). Probiyotik mikroorganizmaların gıdadaki canlılıklarını etkileyen başlıca faktörler arasında kullanılan bakteri türü ya da suşuna ait özellikler, ortamda bulunan bakteri türleri arasındaki etkileşimler, inokülasyon oranı, ürünün asitlik derecesi, depolama sürecince üründe asit üretimi meydana gelmesi, depolama sıcaklığı, üründeki oksijen düzeyi, ambalajın oksijen geçirgenliği, üründeki diğer starter bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyel maddeler ve üründeki besin yetersizliği sayılabilir (Delikanlı, 2014: 59). Bu faktörlerin etkileri çeşitli uygulamalarla önlenmeye ya da en aza indirilmeye çalışılmaktadır.

1. PROBIYOTİK BAKTERİ İÇEREN SÜT ÜRÜNLERİ

Gıdalarla probiyotik bakteri tüketimi, bağırsak mikroflora dengesinin yeniden oluşturulması için ideal ve basit bir yoldur. Probiyotik organizmaların gıdalarla tüketilmesi maksadıyla insanlara ulaştırılması için çok sayıda ürün geliştirilmiştir. Çeşitli ülkelerin marketlerinde satılan probiyotik ürünler Tablo 1’de verilmiştir. Bir kültürün probiyotik olarak kullanılabilmesi için besinlerle alınabilmesi ve sağlık üzerine pozitif etki göstermesi gereklidir (Martin ve Chou, 1992: 21). Ayrıca kullanılan probiyotikler insan kökenli olmalı, klinik çalışmalarla sağlık üzerine etkileri ortaya konulmuş olmalı, gıda ve klinik kullanımları bakımından güvenli olduğu ispat edilmiş olmalı, patojenlere karşı antagonistik aktiviteye sahip olmalı, bağırsak epitel hücrelerine tutunabilmeli, canlı olarak bağırsak sistemine geçebilmeli, asit ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmalı, antimikrobiyal bileşikler oluşturabilmeli, bağırsak sistemindeki normal flora ile rekabet edebilmeli ve bağırsak mikroflorasını stabilize edebilmelidir (Yıldırım vd., 2003: 267).

Geleneksel yoğurt fermantasyonunda kullanılan bakteriler (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*), bağırsak florasına ait mikroorganizmalar grubunda olmayıp, safra asidine karşı direnç göstermezler ve gastrointestinal sistemde canlılıklarını yitirirler (Gilliland, 1979: 164). Buna rağmen geleneksel yoğurt bakterileri hem laktoz sindirimini arttırmak suretiyle hem de fermantasyonu sonucu oluşan metabolitlerin, gastrointestinal sistemdeki patojenlere karşı inhibe edici etkisi ile sağlık üzerine pozitif bir etki yaratırlar (Hoier, 1992: 418).

Probiyotiklerin, sağlık üzerine olumlu bir etki ortaya koyabilmeleri için, bağırsak sisteminde belli bir sayının üzerinde bulunmaları gerekir (Kailasaphaty ve Sultana, 2003: 223). Dünyadaki çeşitli gıda örgütleri tarafından belirlenen ve fermente süt ürünlerinde bulunması gereken minimum *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* sayısı gram başına 10^6 - 10^7 koloni oluşturan birimdir (cfu g⁻¹) (IDF, 1992). Bunun yanı sıra probiyotik bakterilerin etkinliği, ürünün depolanması süresince içerdiği probiyotik bakterilerin canlı kalmasına ve canlılıklarını bağırsaklarda da sürdürebilmelerine bağlıdır.

Tablo 1. Çeşitli ülkelerde satılan probiyotik ürünler (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001: 1)

Ürün	Ülke	Kültür*
AB süt ürünleri	Almanya	A+B
Acidophilus bifidus yoğurdu	Almanya	A+B+Yoğurt kültürü
BA 'Bifidus active'	Fransa	<i>B. longum</i> +Yoğurt kültürü
Bifidus milk	Almanya	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i>
Bifidus yogurt	Birçok ülke	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i> + Yoğurt kültürü
Bifihurt	Almanya	<i>B. longum</i> + <i>S. thermophilus</i>
Bifilak(c)t	Rusya	A+B
Biobest	Almanya	<i>B. bifidum</i> veya <i>B. longum</i> + Yoğurt kültürü
Biokys (=Femilact)	Çek Cumhuriyeti	A+B+ <i>Pediococcus acidilactici</i>
Biomild	Almanya	A+B
Mil-Mil	Japonya	A+B+ <i>B. breve</i>
Bioghurt	Almanya	A+B+ <i>S. thermophilus</i>
Cultura	Almanya, Nveyave	A+B
Philus	İsveç	A+B+ <i>S. thermophilus</i>
BA live	İngiltere	A+B+ Yoğurt kültürü
A-38	Almanya	A+B+Mesophilic LD kültürü
Acidophilus milk	İsveç	A+B+Mesophilic LD kültürü
Kyr	İtalya	A+B+ Yoğurt kültürü
Ofilus	Fransa	A+B+ <i>S. thermophilus</i>
BIO	Fransa	A+B+ Yoğurt kültürü
Biogarde	Almanya	A+B+ <i>S. thermophilus</i>
ABC Ferment	Almanya	A+B+ <i>L. casei</i>
AKTIFIT plus	İsviçre	A+B+ <i>L. casei</i> GG+ <i>S. thermophilus</i>
Symbalance	İsviçre	A+B+ <i>L. reuteri</i> + <i>L. casei</i>
Mona fysis	Hollanda	<i>L. acidophilus</i>
Actimell	Almanya	<i>L. casei</i>
LC-1	Almanya	<i>L. acidophilus</i>
LA-7 plus	Bauer	A+B
Vifit	Almanya	<i>L. casei</i> GG
Primo	Almanya	BactoLab kültürleri
Zabady	Mısır	<i>B. bifidum</i> + Yoğurt kültürü
Activia	Türkiye	ActiRegularis+ Yoğurt kültürü
Yovita	Türkiye	A+B+ Yoğurt kültürü

*A: *L. acidophilus*, B: *Bifidobacteria*, Yoğurt kültürü: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

2. SÜT ÜRÜNLERİNDE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN CANLILIĞININ ARTIRILMASI

Probiyotik bakterilerin süt ürünlerindeki canlılığı, kullanılan suşlara, bakteriyel metabolizma sonucunda üretilen hidrojen peroksit miktarına, ürünün son asitliğine, gelişmeyi destekleyici veya inhibe edici madde varlığına, çözünmüş oksijen miktarına ve ambalajın oksijen geçirgenliğine, inokülüm miktarına, inkübasyon sıcaklığına, fermentasyon süresine ve soğukta depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Shah, 2000: 894).

Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını artırmak için aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir:

Uygun Suşların Seçimi: Probiyotik bakterilerin asit ve tuzlara karşı hassasiyeti suşa göre farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle, süt ve süt ürünlerinde kullanılacak probiyotik suşların seçiminde, ürün içerisindeki olumsuz koşullardan ve vücuda alınması aşamasında incebağırsak tarafından salgılanan tuzlardan ve mide asitliğinden etkilenmemesi önem taşımaktadır (Shah, 2000: 894). *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium*'un asit ve safra tuzlarına karşı dirençlerinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmada, bu bakterilerin birçok türünün gastrointestinal sistemdeki olumsuz koşullara dayanıklılık gösterdiği ve fermente gıdalarda kullanıldığı belirtilmiştir (Shah, 2000: 894). *L. casei*'nin fermente süt ürünlerinde canlı kalma oranının daha yüksek olduğu ve diğer probiyotik bakteriler arasında en yüksek hücre sayısına sahip olduğu bildirilmektedir (Vinderola ve Reinheimer, 2000: 271). Süt ve süt ürünlerinde kullanılacak probiyotik bakterilerin, aside ve safra tuzlarına dirençli suşlardan oluşması bakterilerin canlılığını olumlu yönde etkileyecektir.

Bakteriler arasındaki etkileşim: Yoğurt üretiminde normal olarak *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un karışık suşları kullanılmakla birlikte laktobasillerin karışık suşları, *L. acidophilus*,

Bifidobacterim spp.'nin tek veya karışık suşlarından oluşan yoğurt mikroorganizmaları da kullanılmaktadır (Tamime ve Robinson, 1999: 619).

Probiyotik bakteriler sütte oldukça yavaş gelişim gösterdiklerinden dolayı probiyotik yoğurt üretiminde fermantasyon işlemini iyileştirmek amacıyla ortama yoğurt bakterileri de ilave edilmektedir. Fermantasyona katılan yoğurt bakterileri *L. acidophilus*, *Bifidobacterim* spp'nin canlılığını önemli düzeyde etkilemektedir. (Shah, 2000: 894). *L. acidophilus* içeren yoğurtlarda yoğurt bakterilerinin probiyotik bakteriler üzerine antagonistik etki gösterdiği ve probiyotik hücrelerin, hızla lize olduğu belirlenmiştir (Dave ve Shah, 1997b: 707).

Probiyotik yoğurt üretiminde *L. delbrueckii*. subsp. *bulgaricus* içeren kültür kullanımı, üründe bulunan *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.canlı hücre sayısının azalmasına neden olmaktadır. (Rybka,1994). Bu durum *L. delbrueckii*. subsp. *bulgaricus*'un yoğurtta fermantasyon boyunca pH'ın değerini düşürmesinden ve depolama sırasında oluşan aşırı asidifikasyondan kaynaklanabilir. Bu nedenle probiyotik yoğurt üretiminde starter kültür olarak *L. delbrueckii*. subsp. *bulgaricus* içermeyen ABT kültürlerin (*L. acidophilus*, *B. bifidum* ve *S. thermophilus*) kullanılabileceği bildirilmiştir (Kim vd., 1993: 260).

Bakteriyosinler çeşitli bakterilerin gelişimi üzerine etki göstermektedir. Yapılan çalışmalarda *L. acidophilus* tarafından üretilen bakteriosinin (Acidophilicin LA-1) *L. delbrueckii*. subsp. *bulgaricus*'un yedi suşu ile *L. casei*, *L. helveticus* ve *L. jugurti*'nin birer suşuna karşı antagonistik etki gösterdiği, ancak diğer laktik asit bakterilerine (LAB) karşı etki göstermediği belirlenmiştir (Dave ve Shah, 1997b: 707). Ayrıca *S. thermophilus*'un ürettiği ısıya dayanıklı bakteriyosinin de bifidobakterilerin 2 suşuna karşı antagonistik etki gösterdiği bildirilmiştir (Shah, 2000: 894).

Bifidobakterilerin birçoğu zayıf proteolitik aktivite göstermekte ve üremek için ortamda serbest amino asitlere ihtiyaç duymaktadır (Dave ve Shah, 1997b: 707). Bu nedenle fermantasyon süresince yoğurt bakterileri tarafından üretilen serbest amino asitler, bu probiyotik bakterilerin gelişmesini teşvik etmektedir (Dave ve Shah, 1997b: 707). Benzer şekilde yoğurt bakterilerinden olan *S. thermophilus*'un oksijen kullanım (parçalama) özelliği de ortamdaki bifidobakterilerin gelişmesi ve canlılığını koruması için gerekli anaerobik şartların oluşmasını sağlamaktadır (Ishibashi ve Shimamura, 1993: 129). Bu olumlu etkilerin yanı sıra, bazı çalışmalarda yoğurt bakterilerinin ürettiği asit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi inhibitör maddelerin, ortamda bulunan canlı bifidobakteri sayısındaki düşüşün başlıca sorumlusu olduğu belirtilmiştir (Shah, 2000: 894; Lourens-Hatting ve Viljoen, 2001: 1).

Yüksek Asitliğin Önlenmesi: İyi kalitede bir yoğurt elde edilmesi ve yasal düzenlemelere uyulması için yoğurtta pH'ın 4.5 veya altında olması gerekir. Fermantasyon işlemi sırasında pH değerinin 4.4'ün altına düşmesi, *L. acidophilus* sayısında 3-4 log'luk. bir azalmaya neden olmaktadır (Shah, 2000: 894, Güler Akın ve Akın, 2007: 788). Hood ve Zottola (1988: 1514) *L. acidophilus* (BG2F04 suşunun) canlı hücre sayısının pH 2.0'de hızlı bir azalma gösterirken, pH 4.0'de önemli düzeyde bir azalma sergilemediğini belirlemişlerdir. Çoğu bifidobakteri suşu, 4.6'nın altındaki pH'lara duyarlıdır. Ayrıca *Bifidobacterium*'un gelişimi pH 5.0'in altında yavaşlamaktadır (Tamime vd., 1995:151). Pratik olarak bifidobakter sayısındaki düşüşü önlemek için son ürünün pH'sı 4.6'nın üzerinde olması gerekmektedir. Probiyotik bakterilerin canlılığını olumsuz yönde etkileyen yüksek asitlik son ürünün pH'sının kontrol altına alınması, probiyotik kültür ilavesi yapılmadan önce ürüne ısı işlem uygulanması, depolama sıcaklığının 3-4 °C'nin altına indirilmesi ve peynir altı suyu konsantresi ilavesi ile önlenebilmektedir (Lourens-Hatting ve Viljoen, 2001: 1).

Probiyotik dondurmalarda fermantasyon sonucunda veya meyveli dondurmalarda ilave edilen meyve çeşidine ve miktarına bağlı olarak pH'm düşmesi, probiyotik bakterilerin gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Cruz vd., (2009: 1233) dondurmada pH'm 5-5.5'in üzerinde tutulmasının probiyotik bakteri gelişimini teşvik ettiğini, ayrıca meyveli dondurmalarda düşük asitli meyve pürelerinin veya sularının kullanımıyla canlı probiyotik bakterileri sayısının artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

İnokülüm Oranının Artırılması: İnokülüm oranının yüksek olması, inkübasyon sonucunda ve tüketime kadar olan depolama sürecinde probiyotik bakteri sayısının yüksek kalmasını neden olmaktadır (Lourens-Hatting ve Viljoen, 2001: 1). Dave ve Shah (1997c: :32), dört farklı ticari kültür kullanarak yaptıkları çalışmada inokülüm oranı yüksek tutulan yoğurtlarda 35 günlük depolama sonunda canlı bakteri sayısının, inokülüm oranı düşük tutulan yoğurtlara göre daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Başka bir çalışmada bio-yoğurt üretiminde inokülüm oranı ile *L. acidophilus* ve *L. casei* sayılarının arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Güler-Akın ve Akın, 2007: 788). Cruz ve ark. (2009: 1233) probiyotik dondurmalarda inokülüm oranının yüksek tutulmasıyla dondurmadaki canlı bakteri sayısının daha yüksek kalabileceğini ileri sürmüştür.

Uygun İnkübasyon ve Depolama Sıcaklığı: İnkübasyon sıcaklığı yoğurdun özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Yoğurt bakterileri için (*S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) optimum gelişme sıcaklığı 40-45 °C olarak belirlenmiştir (Tamime ve Robinson, 1999: 619). *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.'nin optimum gelişme sıcaklıklarının sırasıyla 35-38°C ve 37-40°C'dir. Bu nedenle yoğurt üretiminde probiyotik bakterilerin gelişimini hızlandırmak ve kültürlerin canlılığını en yüksek düzeyde tutması için, inkübasyon sıcaklığının 37-40°C arasında olması önerilmektedir (Lee vd., 1999: 211). Güler-Akın ve Akın (2007: 788) 37°C'de inkübe ettikleri bio-yoğurtlardaki *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* BB12 ve *Lactobacillus paracasei* subsp. *casei* sayılarının, 42°C'de inkübe edilen bio-yoğurtlara nazaran daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Depolama sıcaklığı probiyotik bakterilerin canlılığı üzerine olan etkisi bakterinin türüne bağlı olarak farklılık göstermektedir. Probiyotik yoğurt üretiminde soğukta depolamayla *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un gelişimini sınırlandırmakta ve aşırı asidifikasyon engellenerek probiyotik bakterilerin canlılığını sürdürmesi için uygun ortam sağlanmaktadır (Kneifel ve Pacher, 1993: 277). Bunun yansırı soğukta depolamaya bazı probiyotik bakterilerin hassasiyetleri bulunmaktadır. Hughes ve Hoover (1995: 268), *Bifidobacterium* spp.'in soğukta depolamaya karşı *L. acidophilus*'tan daha hassas olduğu bildirmiştir. Nighswonger vd. (1996: 212) *L. casei*'nin buzdolabı koşullarında depolama sırasında *L. acidophilus* kadar, hatta daha fazla stabil olduğunu tespit etmişlerdir. Bir başka araştırmada da depolama sırasında *L. casei* sayısında de hiç azalma olmadığı gözlemlenmiştir (Tuomola vd., 2001: 393). Bununla birlikte soğukta depolama sırasında probiyotik bakterilerin sayısında azalma olduğu bildirilmektedir (Güler-Akın ve Akın, 2007: 788).

Yapılan çalışmalar dondurulmuş probiyotik süt ürünlerindeki canlı bakteri sayısının, dondurma işlemi sırasında hücrelerin hasar görmesi nedeniyle azaldığını göstermiştir (Da Silva vd., 2014: 452; Akın ve Daşnik, 2015: 121). Ayrıca depolama sırasında sıcaklık dalgalanmaları olması durumunda probiyotik bakterilerin zarar görebileceği, bu nedenle depolamada sıcaklık dalgalanmalarından kaçınılması gerektiği belirtilmektedir (Cruz vd., 2009: 1233).

Çözünmüş Oksijen Miktarının Azaltılması: Probiyotik ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılan bakterilerin anaerobik ve mikroaerofilik özellikleri nedeniyle üründeki çözünmüş oksijen miktarı önemlidir (Mattila-Sandholm vd., 2002: 173). Genel olarak, tam anlamıyla anaerobik olan bifidobakteriler oksijene karşı *L. acidophilus*'tan daha hassastır ancak, bu hassasiyet kullanılan suşlara göre değişebilmektedir. Probiyotik gıdalarda depolama boyunca ambalaj içerisindeki oksijen düzeyinin mümkün olduğunca düşük tutulması, mikroorganizma ölümü ve toksisitenin önlenerek ürünün fayda sağlama özelliğinin devamını sağlamaktadır. Bu nedenle probiyotik bakteri içeren süt ürünlerinin cam şişelerde satışa sunulması ve üretimde *S. thermophilus*'un da kültür olarak ilave edilmesi önerilmektedir (Ishibashi ve Shimamura, 1993: 129; Yerlikaya ve Karagözlü, 2008: 57).

Yapılan çalışmalarda dondurmalarındaki probiyotik bakteri sayısının dondurma işlemi sırasında hücrelerin hasar görmesi ve hacim artışı (overrun) sırasında oksijenin toksik etkisi ile yaklaşık 1-2 log düzeyinde azaldığı belirlenmiştir (Da Silva vd., 2014: 452; Akın ve Daşnik, 2015: 121). Dondurmalarındaki canlı probiyotik bakteri sayısının artması, oksijene toleranslı bakteri türlerinin seçilmesi ve oksijen

geçirgenliği düşük ambalajların kullanılmasıyla sağlana bilinir. Ayrıca Akın ve Daşnik (2015: 121), dondurma işleminden önce mikse askorbik asit ilave edilmesinin probiyotik bakterileri oksijenin toksik etkisinden koruduğunu bildirmişlerdir.

İki Aşamalı Fermantasyon Uygulaması: Fermantasyon sırasında yoğurt bakterilerinin probiyotik bakterilere oranla daha hızlı gelişim göstermeleri nedeniyle bunlar tarafından üretilen organik asit ve H₂O₂ probiyotiklerin canlılığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bunu önlemek amacıyla uygulanan, ilk aşamada probiyotik bakteri (2 saat) inokülasyonu, ikinci aşamada yoğurt bakterilerinden oluşan iki aşamalı fermantasyonun probiyotik bakterilerin canlılığını olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir (Lankaputhra ve Shah, 1997: 363).

Stres Koşullarına Adaptasyonun Sağlanması: Bakteriler yüksek ve düşük sıcaklık, düşük asitlik, yüksek ozmotik basınç gibi stres koşullarıyla karşılaştıklarında farklı direnç mekanizmaları geliştirmektedir. Bu mekanizmalar, bakterilerin olumsuz koşullara ve ani çevresel değişikliklere karşı uyum göstermesi sağlamaktadır. Stres koşulları altında bakterilerde meydana gelen bu fizyolojik değişiklikler strese adaptasyon (yanıt) olarak adlandırılır (Streit vd., 2007: 659). Gıdaların işlenmesi sırasında veya tüketiminden önce bakterilerin ölüm eşiği altındaki stres koşullarına maruz kalması bakterilerde strese yanıtı tetikleyerek bakterilerin canlılıklarını koruyabilmelerini sağlamaktadır (Corcoran vd., 2008: 1382). Probiyotik mikroorganizmaların stres koşullarına yanıt vermesi canlı mikro organizma sayısını etkilemektedir. Örneğin düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan probiyotik bakterilerde, strese maruz bırakılmayan bakterilere göre canlılığın arttığı bildirilmiştir (Murga vd., 2000: 342).

Gelişimi Artırıcı Katkıların İlavesi: Fermantasyon süresini kısaltmak ve probiyotik bakterilerin canlılığını sürdürmesini sağlamak amacıyla süte bazı takviyeler ilave edilmektedir. Bu takviyeler: maya, narenciye, domates, mango, yulaf, çilek, bal, soya, peynir altı suyu, yerfıstığı ve tahıl gibi gıdalardan ekstrakte edilmektedir (Wang, 2009: 8).

Süte oligosakkaritler gibi prebiyotiklerin ilavesi de probiyotik mikroorganizmalarının gelişimini olumlu yönde etkilemektedir (Sendra vd., 2008: 13; Kurtuldu, 2012:1317; Akın ve Akın, 2014: 8). Sütün kazein hidrolizatları ve fruktoz ile takviye edilmesi *L. acidophilus*'un gelişimini artırmaktadır (Saxena vd., 1994: 271). *L. acidophilus*'un gelişiminin stimülasyonu, glikoz ve fruktoz gibi basit şekerlerin ve magnezyum ve mangan gibi minerallerin miktarındaki artıştan kaynaklanmaktadır (Ahmed ve Mital, 1990: 228).

Zayıf proteolitik aktivite sahip *Bifidobacterium* spp. azot kaynağı olarak peptit ve amino asitlere ihtiyaç duymaktadır. Üretimde sistein, asit hidrolizatları, peynir altı suyu proteini konsantresi ve peynir altı suyu proteini ilavesinin ABT yoğurtlarda ki *Bifidobacterium* spp. canlılığını attırdığı bildirilmiştir (Dave ve Shah, 1998: 2804). Güler-Akın ve Akın (2007: 788) sistein ilavesinin keçi sütünden üretilen bio-yoğurtlardaki probiyotik bakteri sayısını artırdığını belirlemiştir. Kullanılan takviye maddesinin probiyotik mikro organizma üzerine olan etkisi farklılık göstermektedir. Vitamin, dekstrin ve maltozun *Bifidobacterium* spp. gelişimine olan etkisinin sakkaroz ve demir tuzlarının etkisinden düşük olduğu bildirilmiştir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001: 1). Askorbik asit ilavesi yoğurtta probiyotik bakteri sayısını artırmaktadır (Dave ve Shah, 1997a: 31). Budurum askorbik asitin oksijen tutucu özeliğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca probiyotik dondurma üretiminde askorbik asit ilavesinin *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*L. acidophilus*) ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12'in gelişimini teşvik ettiği bildirilmiştir (Akın ve Daşnik 2015: 121).

Mikroenkapsülasyon Tekniğinin Kullanımı: Mikroenkapsülasyon, bileşenin ya da hücrenin uygun bir materyal içinde hapsedilme işleminin gerçekleştirildiği bir prosestir. Bu teknikte hapsedilen hücreler olumsuz koşullardan yani hücre sayısında potansiyel azalma neden olan ortamdan ayrılmaktadır. Mikroenkapsülasyon tekniği kullanılarak koruyucu materyal ile kaplanan mikroorganizmalar, yoğurt, peynir, dondurulmuş süt ürünleri ve biomass gibi ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Krasaekoopt ve ark., 2003).Yapılan çalışmalarda mikroenkapsülasyon işlemiyle; probiyotik bakterilerin canlılığının hem gıda

maddesi içerisinde hem de gastrointestinal sistemde büyük oranda korunduğu, hidrokolloid tabaka ile kaplanan hücrenin bakteriyofaj saldırısından korunduğu, dondurarak kurutma ve dondurma gibi işlemler sırasında hücrenin zarar görmesinin engellendiği tespit edilmiştir (Kailasapathy, 2006: 1221; Eren, 2009: 78; Pimentel-González vd., 2009: 292; Ying vd., 2016: 447).

3. SONUÇ

Probiyotik organizmaların gıdalarla tüketilmesi için çok sayıda ürün geliştirilmiştir. Bunların başında süt ürünleri gelmektedir. Probiyotik süt ürünleri üzerine yapılan çalışmalar canlı bakteri sayısının üretim tekniğine, depolama şekline ve süresine bağlı olarak düştüğünü ve son ürünlerdeki canlı bakteri sayısının probiyotik etki gösterecek düzeyde olmadığını göstermiştir. Probiyotik bakterilerin canlılığı, mikroorganizmanın özelliği, inokülasyon oranı, ürünün asitlik derecesi, depolama sıcaklığı, kullanılan ambalaj materyalinin özelliği gibi birçok koşula bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkisi gastrointestinal sistemden geçmesi esnasında metabolik ve biyolojik aktivitelerinin kaybedilmemesine bağlıdır.

Yapılan çalışmalarda probiyotik bakterilerin süt ürünlerindeki ve gastrointestinal sistemdeki canlılığının artırılması için,

- kültür olarak ürüne uygun, asit ve safra tuzlarına karşı dayanıklı suşların seçilmesi ve biri birleri üzerinde simbiyotik etkiye sahip suşların bir arada kullanılması,
- üretim ve depolama sırasında pH değerinin kontrol altında tutulması ve probiyotik yoğurt üretiminde ABT kültürlerin kullanılmasıyla aşırı asidifikasyonun engellenmesi,
- inokülüm oranının mümkün olduğunca yüksek tutulması, inkübasyon sıcaklığının 37–40°C arasında olması ve iki aşamalı inkübasyon uygulanması,
- soğuk depolamaya dayanıklı *L. casei* gibi probiyotik bakterilerin tercih edilmesi ve depolama süresinde sıcaklık dalgalanmalarının önlenmesi,
- ürünlerin ambalajlanmasında düşük oksijen geçirgenliğine sahip materyallerin kullanılması, üretimde oksijeni kullanarak anaerobik ortam oluşturan *S. thermophilus* içeren kültür tercih edilmesi,
- askorbik asit ilavesiyle oksijene karşı hassas bifidobakter suşlarının gelişiminin teşvik edilmesi,
- probiyotik süt ürünlerinin üretimin gelişimi artırıcı katkıların ürüne ilave edilmesi ve
- mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik ürünlerdeki kullanımı üzerine yapılan çalışmaların artırılması önerilmektedir.

Son yıllarda bilinçli tüketicilerin sayısının artması ile probiyotik süt ürünlerine olan talep çoğalmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalardan elde edilen bulguların probiyotik süt ürünlerinin üretim ve depolanma aşamalarında kullanılması önem taşımaktadır. Probiyotik süt ürünlerindeki canlı probiyotik bakteri sayısının artırılmasına ve depolama boyunca ürünün stabilitesinin korunmasına yönelik araştırmaların sürdürülmesi gerekmektedir.

5. KAYNAKÇA

- Ahmed, B. ve Mital, B. K. (1990). Effects of magnesium and manganese ions on the growth of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Technology*, 27 (4), 228–229.
- Akın, M. B. ve Akın M. S., (2014). The effects of carob extract powder and sugar level on the some properties of acidophilus yoghurt. *Balkan Agriculture Congress*, p545. 8-11 September 2014, Edirne/Turkey.

- Akın, M. B. ve Daşnik, 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. doi: 10.15567/mljekarstvo.2015.0202
- Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F. ve Ross, R. P. (2008). Life under stress: The probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design*, 14, 1382-1399.
- Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria, J. A. F. ve Saad, S. M. I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42, 1233-1239.
- Da Silva, P. D. L., De Fatima Bezerra, M., Dos Santos, K. M. O. and Correia, R. T. P. (2014). Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions, *LWT-Food Science and Technology*, 1(62), 452-457. doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.055
- Dave, R. I. ve Shah, N. P. (1997a). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31-41.
- Dave, R. I. ve Shah, N. P. (1997b). Characteristics of bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-1. *International Dairy Journal*, 7, 707-715.
- Dave, R. I. ve N. P. Shah. (1997c). Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts. *Food Australia* 49:32-37.
- Dave, R. I. ve Shah, N. P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science*, 81, 2804-2816.
- Delikanlı, B. ve Özcan, T. (2015). Probiyotik içeren yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 59-70.
- Eren, L. (2009). Sodyum aljinatla kapsüllenmiş bazı probiyotik bakterilerin stirred tip meyveli yoğurtlarda ve in vitro koşullarda canlı kalma sürelerinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Harran Üniversitesi. Şanlıurfa.
- Gilliland, S. E. (1979). Beneficial inter-relationships between certain microorganisms and humans: Candidate microorganisms for use as dietary adjuncts. *Journal of Food Protection*, 42, 164-167.
- Güler-Akın, M. B. ve Akın, M. S. (2007). Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chemistry*, 100(2), 788-793.
- Hoier, E. (1992). Use of probiotic starter cultures in dairy products. *Food Australia*, 44(9), 418-420.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger U. ve Huis In't Veld, J. H. J. (1998). Over view of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.
- Hood, S. K. ve Zottola, M. L. (1988). Effect of flow pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 53, 1514-1516.
- Hughes, D. B. ve Hoover, D. G. (1995). Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 268-276.
- IDF (1992), International Standard 163. General standard of identity for fermented milks. International Dairy Federation, Brussels.
- Ishibashi, N. ve Shimamura, S. (1993). Bifidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technology*, 47(6), 126, 129-134.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT-Food Science and Technology*, 39 (10), 1221-1227.
- Kailasapathy K. ve Sultana K. (2003). Survival and beta D-Galactosidase activity of encapsulated and free *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice-cream, *Australian Journal of Dairy Technology*, 58, 223-227.
- Kim, E. R., Lee, K. W., Park, Y. H. ve Kwak, H. S. (1993). The study of lactic acid bacteria in yogurt during delivery and storage. *Korean Journal of Dairy Science*, 14(3), 260-268.

- Kneifel, W. ve Pacher, B. (1993). An X-Glu based agar medium for the selective enumeration of *L. acidophilus* in yogurt related milk products. *International Dairy Journal* 3,277–291.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. ve Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt: A review, *International Dairy Journal*, 13 (1), 3-23.
- Kurtuldu, O. (2012). Probiyotik yoğurt üretiminde β -glukan kullanımı. (Yüksek Lisans Tezi) Uludağ Üniversitesi. Bursa, Türkiye,
- Lankaputhra, W.E.V., and Shah. N. P. (1997). Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria in yogurt using two step fermentation and neutralised mix. *Food Australia*, 49,363–366.
- Lee, Y., Nomoto, K., Salminen, S. ve Gorbach, S., L. (1999). *Handbook of Probiotics*. Wiley-Interscience Publication, New York.
- Lourens-Hatting, Viljoen, B. C. (2001). Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1-17.
- Martin, J. H. ve Chou, K. M. (1992). Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: I-tolerance to pH of yogurt. *Cultured Dairy Products Journal*, 27(4), 21–26.
- Mattila-Sandholm, T., Mylärinen, P., Crittenden, R., ve Mogensen, G., (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal* 12, 173-182.
- Murga, M. L. F., Cabrera, G. M., De Valdez, G. F., Disalvo, E. A. ve Seldes, A. M. (2000). Influence of growth temperature on cryotolerance and lipid composition of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 342-348.
- Nighswonger, B. D., Brashears, M. M. ve Gilliland, S. E. (1996). Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 79, 212–219.
- Pimentel-González, D. J., Campos-Montiel, R. G., Lobato-Calleros, C., Pedroza-Islasd, R. ve Vernon-Carter E. J. (2009). Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int.*, 42,292–297. doi: 10.1016/j.foodres.2008.12.002
- Rybka, S. (1994). The enumeration of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in yogurt. B.Sc. dissertation, University of New South Wales, Sydney.
- Saxena, S. N., Mital, B. K. ve Garg, S. K. (1994). Effect of casitone and fructose on the growth of *Lactobacillus acidophilus* and its survival during storage. *International Journal of Food Microbiology*, 21, 271–276.
- Sendra, E., Fayos, P., Lario, Y., Ferna' Ndez-Lo' Pez, J., Sayas-Barbera', E. ve Pe'Rez-Alvarez, J. A. (2008). Incorporation of citrus fibers in fermented milkcontaining probiotic bacteria. *Food Microbiology* 25, 13–21.
- Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science* 83, 894-907.
- Shori, A. B. (2017).Microencapsulation improved probiotics survival during gastrictransit. *Hayatı Journal of Biosciences*, 24, 1-5.
- Streit, F., Corrieu, G. Ve B'Eal, C. (2007). Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CFL1. *Journal of Biotechnology*, 128, 659–667.
- Tamime, A. Y. ve Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt Science and Technology*. Woodhead Publishing Ltd. Second Edition, Cambridge.
- Tamime, A. Y., Marshall, V. M. E. and Robinson, R. K. (1995). Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, 62, 151–187.
- Tuohy, K. M., Probert, H. M., Smejkal, C. W. ve Gibson, G. R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health, *Drug Discovery Today*, 8 (15), 692-700.

- Tuomola E, Crittenden, R, Playne, M, Isolauri, E. ve Salminen, S. (2001). Quality assurance criteria for probiotic bacteria, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 393-398.
- Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve kullanım alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 95-104.
- Vinderola, C. G. ve Reinheimer, J. A. (2000). Enumeration of *L. casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 10, 271-275.
- Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 1(42), 8-12.
- Yerlikaya, O. ve Karagözlü, C. (2008). Probiyotik süt ürünleri ve bağışıklık sistemi. *Süt Dünyası*, 16, 57-59.
- Yıldırım, Z., Bayram, M. ve Yıldırım, M. (2003). Probiyotik, Prebiyotik ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Yararlı Etkileri. (ss 22-23) *Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, Mayıs 2003. İzmir.
- Ying, D., Sanguansri, L., Weerakkody, R., Bull, M., Singh, T. K. ve Augustin, M. A. (2016). Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics. *Journal of Functional Foods*, 25, 447-458.