

## **Peynirde Olgunlaşma**

Songül Çakmakçı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum  
\*cakmakci@atauni.edu.tr, songulcakmakci@hotmail.com

### **Özet**

Olgunlaşma, peynirlerin çeşidine özgü tat, koku, aroma, renk, kıvam, görünüş ve kabul gibi özellikleri kazanabilmesi için, belirli şartlar ve süreler içinde geçirdiği değişikliklerin toplamı olarak tanımlanabilir. Olgunlaşma genel olarak, peynirin olgunlaşma odasına alınmasıyla; geniş anlamda ise süt memeden sağıldığı anda başlamaktadır. Peynir üretiminin en eski gıda fermantasyonlarından olduğu, ancak peynir lezzetinin gelişimiyle ilgili olaylar ve oluşan bileşiklerin henüz tam olarak aydınlatılmadığı bildirilmektedir. Dünyada yaklaşık 4000 peynir çeşidinin olduğu; bu büyük değişimde; hammadde ve işleme teknolojisi farklılıkları ile lezzet ve tekstürü etkileyen olgunlaştırma şartlarının önemli birer faktör olduğu belirtilmektedir (1,2).

Bu özetle çok önemli ve kapsamlı bir konu olan peynir olgunlaşması ile ilgili glikoliz, proteoliz ve lipoliz ile olgunlaşmada etkili diğer önemli faktörler kısaca ele alınmıştır.

Bugün, dünyada üretilen peynirlerin %75 kadarı peynir mayası (rennet) ile pıhtılaştırılıp, pıhtının farklı şekillerde işlenmesi ile üretilmektedir. Bu tip peynirler üretimden hemen sonra taze olarak tüketilebilirse de tamamına yakını belli süre ve şartlarda bekletilerek, bir olgunlaşma dönemi geçirdikten sonra pazara sunulmaktadır (3-5). Olgunlaşma süresi peynir çeşidine göre 2 hafta ile 2 yıldan fazla olabilmektedir (5,6). Ekonomik değeri yüksek olan Salamura Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerimiz olgunlaştırılarak tüketilirler /tüketilmelidirler.

Peynirlerin çeşidine özgü niteliklerin oluşmasını sağlayan olgunlaşma, ve dolayısıyla lezzet gelişiminde bir sıra dahilinde organize olmuş enzimler rol almaktadır. Bu işlemde, rennet (özellikle rennin enzimi), sütte doğal olarak bulunan proteinazlar ve lipazlar, starter kültür (bakteri, maya ve küf), sekonder mikroorganizmalar ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin enzimleri ve faaliyetleri ile çevre şartları esastır (2-4,7-9). Bunlardan her birinin önemi peynir çeşidine göre değişmektedir. Bu enzimlerin substratları laktoz, lipitler, proteinler veya bunlardan üretilen bileşiklerdir. Mikroorganizmaların ve enzimlerin faaliyetlerini etkileyen her faktör peynirin olgunlaşmasını, dolayısıyla niteliklerini az veya çok etkiler. Olgunlaşma sırasında, özellikle mikroorganizma kaynaklı hücre içi ve hücre dışı enzimler, ham peynirdeki besin unsurlarını çeşitli şekil (glikoliz, proteoliz ve lipoliz) ve düzeyde parçalayarak oluşturdukları parçalanma

ürünleriyle peynirin kendine özgü lezzet ve tekstürünü oluştururlar. Peynirin lezzeti ve kalitesi, bu reaksiyon ürünlerinin konsantrasyonları ve oranlarına bağlıdır. Glikoliz peynir üretiminden sonra birkaç gün ile birkaç hafta içinde tamamlanırken, proteoliz ve lipoliz olgunlaşma süresince devam etmektedir. Olgunlaşma döneminde, hoş giden lezzet gelişimi için, peynirde meydana gelen çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar arasında hassas bir dengenin bulunması zorunludur (8).

Olgunlaşma sırasında peynirde meydana gelen biyokimyasal olaylar, ayrı safhalar halinde değil de çoğu kez iç içe cereyan ederek peynirlerin kendine özgü niteliklerini kazanmasına neden olmaktadır. Çok karmaşık biyokimyasal olaylar sırasında, bazen bir takım etkenlerle kusurlar oluşmakta ve elde edilen peynirlerin kendi çeşidinin özelliklerini taşımadığı ve tüketime sunulmalarının mümkün olmadığı görülmektedir (10,11). Peynire özgü niteliklerin tam olarak ortaya çıkabilmesi ancak olgunlaşma şartlarının tam olarak sağlanması ile mümkündür. Peynirin olgunlaşması, diğer bir ifadeyle telemenin peynire dönüşmesinde; 1. Olgunlaşma şartları (sıcaklık, nem, tuz, pH ve süre), 2. Telemenin bileşimi ve 3. Telemenin mikrobiyal içeriği ve enzimler etkili olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Peynir, Olgunlaşma, Glikoliz, Proteoliz, Lipoliz

#### **Kaynaklar**

1. Steele JL, Ünlü G. 1992. Impact of lactic acid bacteria on cheese flavor development. Food Technol. 46: 128-135.
2. Çakmakçı S. 1996. Peynir lezzeti ve oluşumu- I ve II. Gıda, 21 (4) 261-272.
3. Öztekin L. 1991. Peynirde olgunlaşma ve buna etkili olan faktörler. II. Milli Süt ve Ürünleri Sempozyumu "Peynir" (12-13 Haziran 1991, Tekirdağ) (s 125-141).
4. Banks JM. 1992. Cheese. In: R. Early. The Technology Dairy Products (pp 39-65). Blackie and Son Ltd. London.
5. Fox PF, Kelly AL. 2004. Milk proteins: Technological aspects. International Dairy Symposium (24-28 May, Isparta, Turkey) s 17-36.
6. Akın N. 2004. Modern Süt Ürünleri Teknolojisi. Damla Ofset, Konya.
7. Fox PF, McSweeney PLH. 1995. Chemistry, biochemistry and control of cheese flavour. In 4 th Cheese Symposium. National Dairy Products Research Centre Moorepark, pp. 135-159, Fermoy Co., Cork.
8. Lyne J. 1995. Improving cheese flavour. In 4 th Cheese Symposium. National Dairy Products Research Centre Moorepark, pp. 46-50, Fermoy Co., Cork.
9. Kelly M, Fox PF, Mc Sweeney PLH. 1996. Effect of salt-in-moisture on proteolysis in Cheddar cheese. Milchwissenschaft, 51 (9) 498-501.
10. Uraz T. 1979. Peynirlerde acı tadın oluşumu. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 730, Ankara.
11. Çakmakçı S, Şengül M. 1995. Peynirde acı tat oluşumu, etki eden faktörler ve kontrolü. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 26 (3) 385-399.

## **Probiyotik Bakterilerin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri**

Songül Çakmakçı<sup>1\*</sup>, Tamer Turgut<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Hınıs Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Bölümü, 25600, Erzurum

\*songulcakmakci@hotmail.com

### **Özet**

Probiyotik bakteriler konakçının sindirim sisteminde canlılığını koruyabilen ve çoğalabilen, bağırsaklarda sindirime yardımcı olabilen ve bağırsak mikroflorasının dengesini koruyabilen, insan sağlığına yararlı laktik asit bakterileridir. Probiyotiklerin alınmasıyla sağlanan sağlık avantajları; laktoz intolerans belirtilerinin azaltılması, önemli sindirim enzimlerinin üretimi, sindirim sisteminin enfeksiyon hastalıklara karşı direncinin artırılması, bağırsak hareketlerinin uyarılması/kabızlığın tedavisi, kanserin engellenmesi, serum kolesterol seviyesinin düşürülmesi, çeşitli üst sindirim sistemi rahatsızlıklarının önlenmesi ve bağışıklığın uyarılması şeklinde sıralanabilir. Patojen bakteriler ve virüsler vücuda girdikleri zaman vücut bunları yabancı maddeler olarak algılayıp uzaklaştırabilme yeteneğine sahiptir. Bu yetenek genel olarak bağışıklık sistemi olarak isimlendirilmektedir. Lenfoid organlar ve immün cevapta görevli olan hücreler bağışıklık sistemini oluşturmaktadır. İnsan vücudunda sindirim sistemiyle işbirliği halinde olan limfoid dokular bulaşıcı ajanlara ve yabancı antijenlere karşı doğal koruma sağlamaktadırlar. Sağlıklı insanlarda bu doku, normal bağırsak mikroflorası ile birlikte patojen bakterilerin, çeşitli antijenlerin ve diğer toksik bileşenlerin sindirim kanalından kana geçmesine karşı bariyer görevi yapar. LAB'nin hem spesifik (sitokinler, IgA seviyesi, limpositlerin çoğaltılması) hem de spesifik olmayan mukozal yolla (fagositoz yoluyla, NK hücre aktivitesi) konakçıda bağışıklığı artırdığına dair yeterince kanıt olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle probiyotik bakterilerin sadece tedavi amacıyla değil aynı zamanda koruyucu olarak da sunulması mantıklı olmaktadır. Bu çalışmada probiyotik bakterilerin bağışıklık sistemi üzerine olan etkileri özetlenmeye çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik bakteri, Bağışıklık sistemi, IgA, Sitokinler

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

## **Probiyotiklerin Patojenlerle Rekabeti ve Bazı Sindirim Sistemi Bozukluklarına Etkileri**

Songül Çakmakçı<sup>1\*</sup>, Tamer Turgut<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü, 25240, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Hınıs MYO Gıda Teknolojisi Bölümü 25600, Erzurum

\*cakmakci@atauni.edu.tr; songulcakmakci@hotmail.com

### **Özet**

Probiyotik bakteriler (probiyotikler) sindirim sistemindeki (SS) patojenlere karşı; 1. SS savunma bariyerlerinin artırılması, 2. patojenlerin tutunmalarının engellenmesi, 3. laktik ve asetik asitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, bakteriosinler, diasetil ve safra tuzları gibi metabolik ürünlerle patojenlerin antimikrobiyal inhibisyonu gibi mekanizmalarla mukavemet etmektedir. *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* türlerinin *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* ve *Clostridium perfringens* gibi patojen bakterilerin gelişmesi üzerine antagonistik etkiye sahip olduğu; *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilerin neden olduğu diyarenin tedavisi ve önlenmesinde başarılı olduğu; SS oluşan gazları azalttığı ve *Clostridium difficile*'nin neden olduğu diyareyi hafiflettiği, *Bifidobacterium bifidum*'un çocuklarda rotavirüslerin neden olduğu diyareyi önlediği belirtilmektedir. Probiyotiklerin, gıda alerjileri ve karın bölgesine uygulanan radyoterapi ve kolon kanserinin ilerlemesiyle seyreden bağırsak rahatsızlıkları ve ateşli bağırsak iltihabının tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir. *Helicobacter pylori*'nin kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanserinin oluşumuyla ilgili olduğu; *Bifidobacterium* ve *L. acidophilus*'un bu hastalıkların tedavisinde yararlı olduğu belirtilmektedir. Bu derlemede, özeti verilen bilgilerin biraz daha detaylı bir sunumu yapılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik, Patojen, Sindirim sistemi

### **Giriş**

#### **Probiyotiklerin Patojenlerle Rekabeti**

Günümüzde normal SS mikroflorasının, patojenlere karşı koruyucu görev yaptığı tam olarak kabul edilmektedir (1-4). *L. acidophilus* ve *bifidobacterium* türlerinin; *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica* ve *C. perfringens* gibi patojenler üzerine antagonistik etkiye sahip olduğu (5,6), *E. coli*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilerin neden olduğu diyarenin tedavisi/önlenmesinde başarılı olduğu (7,8) belirtilmektedir. *B. bifidum*, bebeklerde (6-24 aylık) görülen diyarenin ana nedenlerinden olan ve gelişmekte olan ülkelerde yılda yaklaşık 1 milyon çocuğun ölümüne yol açan rotavirüslere karşı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (5,8-10). Probiyotiklerin, gıda alerjilerinde ve karın bölgesine uygulanan radyoterapi ve

kolon kanserinin ilerlemesiyle seyreden bağırsak rahatsızlıklarında kullanılabileceği bildirilmiştir (11,12). Probiyotikler SS patojenlere karşı; (1) SS bağırsıklıkla ilgili/ilgisiz savunma bariyerlerinin artırılması, (2) patojenlerin tutunmalarının engellenmesi, (3) laktik ve asetik asitler, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, bakteriosinler, diasetil ve safra tuzları gibi metabolik ürünler ile patojenlerin antimikrobiyal inhibisyonu ve kompetitif baskılama şeklinde sıralanan mekanizmalarla mukavemet etmektedir (5,12-15). Midedeki asidik şartlar bu bileşiklerin aktivitesini artırmaktadır (16,17). SS diğer muhtemel mekanizmalar, laktik ve asetik asidin üretimi ile kalın bağırsakta pH'nın düşmesiyle patojenlerle rekabet edilip inhibe edilmelerini içermektedir (7,18). Bu asitler bağırsakların peristaltik hareketini hızlandırarak patojenlerin hızla uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (16). Nisin, laktobrevin, acidophilin, acidolin, laktosidin, laktolin gibi bakteriyosinler geniş bir aralıktaki gıda kaynaklı patojenlere karşı etkilidir. Heterofermantatif LAB tarafından sentezlenen CO<sub>2</sub> enzimatik dekarboksilasyon reaksiyonlarını inhibe eden anaerobik ortam oluşturarak veya membran lipit tabakasında birikip geçirgenliği bozarak patojenleri inhibe edebilmektedir. Laktobasiller tarafından üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, laktoperoksidaz-tiyosiyanat yoluyla oluşan hidrosiyanik asit ile gıda kaynaklı patojenlere etki etmektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in antimikrobiyal etkisi, birçok enzimin denaturasyonuna neden olan sülfidril gruplarının oksidasyonundan ve membran geçirgenliğini artıran membran lipitlerinin peroksidasyonundan kaynaklanmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gıdalardaki *S. aureus*, *Pseudomonas* ssp. ve çeşitli psikrotropik mikroorganizmaları inhibe etmektedir (5,16).

Bilimsel veriler, probiyotiklerin hem sistemik bağırsıklığı hem de intestinal mukozal bağırsıklığı kuvvetlendirdiğini (5), spesifik bir bakteri grubuna etkilerinin, sistemik veya mukozal bağırsıklığın uyarılması veya SS metabolize edici etkileriyle oluşturdukları direkt antagonistik etkilerine bağlanmaktadır (19). Probiyotiklerin SS diğer bakterilerle ve mukoz tabakayla yaptığı etkileşimlerin mekanizması tam bilinmemesine rağmen gıda alerjileri ve bağırsak iltihaplanmaları gibi birçok klinik çalışmada kullanımları başarılı olmuştur. SS hastalıkları başlıca patojenler, antibiyotikler ve rotavirüslerin neden olduğu ishali kapsamaktadır (16,17). Ateşli bağırsak iltihaplanması (ABİ), midenin kronik iltihaplanmasıyla sonuçlanan, tedavi edilemeyen geniş bir aralıktaki hastalıkları kapsamakta ve probiyotiklerin ABİ'nin tedavisinde kullanılabileceği bildirilmektedir (15).

Antibiyotik tedavisinin en sık görülen yan etkisi, antibiyotiklere bağlı diyare (AAD, antibiotic-associated diarrhoea) olup görülme sıklığı %10-25'dir (20). Antibiyotik tedavisi SS'nin normal ekolojik mikroflorasını değiştirerek *C. difficile* gibi patojenlerin ortaya çıkmasına neden olmakta ve *C. difficile* orta seviyedeki diyareden (%20-25) hayatı tehdit eden pseudomembranous kolitise (%95) kadar neden olmaktadır (8,10,15,21). *L. acidophilus* ile birlikte alınan *Bifidobacterium longum*, ampicilin ve eritromisin kaynaklı diyarelerin etkilerinin/yan etkilerinin

azaltılması ve SS florasının yeniden kurulma süresinin kısaltılmasında etkili bulunmuştur (1). Zavaglia *et al.* (18), bifidobakterlerin Peyer's Patch hücrelerini çoğalttığını ve enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiğini bildirmişlerdir. Koliform kaynaklı diyarelerde probiyotik alımının yararlı etkisi, *L. acidophilus* tarafından üretilen antimikrobiyal maddelerin *E. coli*'nin enterotoksinlerini etkisizleştirmesiyle olabileceği (22), Bifidobakterler ve *L. acidophilus*'un SS oluşan gazları azalttığı ve *C. difficile* kaynaklı diyareyi hafiflettiği belirtilmiştir (6).

### **Probiyotiklerin Bazı Sindirim Sistemi Rahatsızlıklarına Etkileri**

*L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* türlerinin peptik ülser, gastro-özofajial reflü, mide yanmaları ve mide kanseri gibi üst SS rahatsızlıklarının tedavisinde faydalı olduğu; özofagus, mide ve duodenum gibi yüksek asitli (pH 3) bölgelerden geçerken canlı kalıp, peptik ülser neden olan *H. pylori*'nin gelişmesini engelleyebildikleri (5,20), *H. pylori*'nin neden olduğu hastalık vakalarında midedeki laktobasillerin sayıca yetersiz olduğu bulunmuştur. Böyle durumlarda bifidobakterlerin sayısındaki azalmayla eş zamanlı olarak fırsatçı enterobakterlerin sayısının arttığı ve lokal bağışıklığın değiştiği, *H. pylori*'nin mide epitel dokusuyla temas sağlayabilmesi için bir miktar zamana ihtiyacı olduğu ve enfeksiyonun oluşabilmesi için SS mikroflorasının çok önemli olduğu ispatlanmıştır. Temel klinik verilere dayanarak, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerini içeren probiyotiklerin çocuklarda *H. pylori*'nin neden olduğu rahatsızlıklarda ilaç olarak kullanılabilirliği (6), bozulan mikrobiyal dengenin tekrar düzeltilmesi ve bağışıklık sisteminin kuvvetlendirilebileceği belirtilmiştir (2,4). *H. pylori*'nin kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanseri gibi hastalıklarla ilgili olduğu bilinmektedir (19,23). *H. pylori* tarafından üretilen üreaz, üreyi hidrolize ederek mide pH'sını yükseltmekte ve bakterinin burada kolonizasyonuna neden olmaktadır (8). Bir çalışmada *H. pylori*'nin gelişiminin bağışıklık sistemi tarafından engellenebildiği ve midede daha önce yerleşmiş bulunan laktobasiller tarafından tamamen yok edilebildiği ileri sürülmüştür. Yine *L. acidophilus*'un 6 ve *L. casei* ssp. *rhamnosus*'un 1 suşunun *H. pylori*'nin gelişmesini inhibe ettiği, ancak *B. bifidum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus bulgaricus*'un edemediği bildirilmiştir (6).

### **Kaynaklar**

1. O'Sullivan DJ. 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. *Agric. Food Chem.*, 49: 1751-1760.
2. Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Critenden R, Mogensen G, Fonden R, Saarela M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.*, 12: 173-182.
3. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 279-289.
4. Saarela M, Lähteenmäki L, Crittenden R, Salminen S, Mattila Sandholm T. 2002. Gut bacteria and health foods-the European perspective. *Int. J. Food Microbiol.*, 78:9-117.

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

5. Kailasapathy K, Chin J. 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Immunol. Cell Biol., 78: 80-88.
6. Zubillaga M, Weill R, Postaire E, Goldman C, Caro R, Boccio J. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutr. Res., 21: 569-579.
7. Gibson GR, Saavedra JM, Macfarlane S, Macfarlane GT. 1997. Probiotics and Intestinal Infections. Probiotics 2, Ed: R. Fuller. Chapman and Hall, England, 10-39.
8. Sullivan A, Nord CE. 2002. The place of probiotics in human intestinal infections. Int. J. Antimicrob. Ag., 20: 313-319.
- 9 Stanton, C, Gardiner G, Meehan H, Collins K., Fitzgerald G, Lynch PB, Ross RP. 2001. Market potential for probiotics. Am. J. Clin. Nutr., 73 (2 Suppl.) 476-83.
10. Nomoto K. 2005. Prevention of infections by probiotics. J. Biosci. and Bioeng., 100: 583-592.
11. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T. 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. Int. J. Food Microbiol., 44: 93-106.
12. Gomes AMP, Malcata FX. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci. Tech. 10:139-157.
13. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JHJ. 1998. Overview of gut flora and probiotics. Int. J. Food Microbiol., 41: 85-101.
14. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. Int. Dairy J., 11: 1-17.
15. McNaught CE, McFic J. 2001. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. Nutrition Research, 21: 343-353.
16. Erkkilä S. 2001. Bioprotective and Probiotic Meat Starter Cultures or the Fermentation of Dry Sausages. Helsinki Univ Food Technol. Department Helsinki.
17. Työppönen S, Petaja E, Mattila-Sandholm T. 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. Int. J. Food Microbiol., 83: 233-244.
18. Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, Disalvo E, De Antoni G. 2002. Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. J. App. Microbiol., 93: 794-799.
19. Kalantzopoulou G. 1997. Fermented products with probiotic qualities. Anaerobe, 3: 185-190.
20. Brassart D, Schiffrin EJ. 1997. The use of probiotics to reinforce mucosal defence mechanism. Trends Food Sci. Tech., 8: 321-326.
21. Lee YJ, Yu KW, Heo TR. 2003. Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from healthy infant faeces. Int. J. Antimicrob. Ag., 21: 340- 346.
22. Bomba A, Nemcová R, Mudronová D, Guba P. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. Trends Food Sci. Tech., 13: 121-126.
23. Penner R, Fedorak RN, Madsen KL. 2005. Probiotics and nutraceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. Curr. Opin. Pharmacol., 5: 596-603.



## ***Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20056'un Asitliğe Dirençliliğinin Belirlenmesi**

Tamer Turgut<sup>1</sup>, Songül Çakmakçı<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Hınıs MYO, 25600, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum  
\*cakmakci@atauni.edu.tr; songulcakmakci@hotmail.com

### **Özet**

Probiyotik kültürlerin seçiminde aside ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmaları; sindirim sisteminin üst bölgelerinden geçerken yüksek sayılarda canlı kalabilmeleri, bağırsak içerisinde yararlı etkiler sunabilmeleri ve bağırsak bölgesine tutunup kolonize olmaları için zorunlu olmaktadır. Bu çalışmada *Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20056 suşunun düşük pH'da canlı kalma yeteneği in vitro yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Düşük pH'da canlı kalma yeteneğinin belirlenmesinde; içerisinde 10 ml steril fosfat tamponlu tuz çözeltisi bulunan tüp serilerinin pH değerleri 1; 2,5; 3,5 ve 5,5'e ayarlanmıştır. Hazırlanan tüpler aşılandıktan sonra 37°C'de 1, 2 ve 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Canlı mikroorganizma sayıları, belirtilen sürelerin sonunda MRS agara ekim yapıp, 30°C'de 48 saat inkübasyondan sonra belirlenmiştir. Araştırmada *B. bifidum* DSMZ 20056'nın asidik şartlara toleranslı olduğu tespit edilmiştir. pH 3,5 ve 5,5 seviyesinde bakteri sayısında önemli değişimin olmadığı, en yüksek *B. bifidum* sayısının pH'sı 5,5'e ayarlanmış tüpte 3 saat sonra bulunduğu saptanmıştır. Sonuç olarak; bu suşun özellikle yoğurt gibi düşük pH'lı probiyotik ürünlerde başarıyla kullanılabilirliği ortaya çıkmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Bifidobacterium bifidum*, Probiyotik bakteri, Asitliğe direnç

### **Giriş**

Probiyotikler sindirim sistemi mikroflorasını geliştirerek konakçının sağlığı üzerine yararlı etkiler sunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin alınmasıyla sağlanan sağlık avantajları; bağışıklığın uyarılması, sindirim sisteminin enfeksiyon hastalıklara karşı doğal direncinin artırılması, fekal mutajenitenin azaltılması, serum kolesterol seviyesinin düşürülmesi şeklinde sıralanabilir. Daha detaylı bilgi için belirtilen makaleler incelenmelidir (1-8). Gıdalarda ve terapötiklerde, ticari kullanım için seçilen probiyotik bakteriler sindirim sisteminin üst bölgelerinden geçerken yüksek sayılarda canlı kalabilmeli, bağırsak içerisinde yararlı etkiler sunabilmeli ve bağırsak bölgesine tutunup burada yerleşebilme kabiliyetinde olmalıdır (1,9,10). Canlı kalabilmeleri için, ince bağırsaklarda varolan safra tuzlarına, midedeki şartlara (pH 1-4), bağırsaklardaki lizozim gibi enzimlere, sindirim sırasında oluşan toksik metabolitlere ve oksijene dayanıklı olmalı, sağlık üzerine faydalı etki oluşturan özelliklere sahip olmalıdırlar

(10-15). Sindirim sistemine girerken bakterilere karşı gerçek anlamda ilk tehdit yüksek asitli mide salgıları ve safra tuzlarıdır (16). Burada kalma süresi kişiye, diyete ve ortamdaki genel duruma göre bir saatten birkaç saate kadar değişebilmektedir. Midenin pH değeri, gıda yokken düşük (pH 1,5), dolu iken yüksektir (pH 5,5) (12). Probiyotik bakterilerin mideden geçerken canlı kalabilmelerinin farklılık gösterebildiği ve bu özelliğin suşa bağlı olduğu belirtilmektedir (17-19). Gıdaların midede kalma süresi de diyetin protein, karbonhidrat ve yağ içeriğine bağlı olarak 1-3 saat arasında değişmektedir. Midedeki doğal HCl konsantrasyonu 170 mM olabilmekte ve pH yaklaşık 1'e kadar düşebilmektedir. Standart bir öğünden sonra midenin pH'sı 7,0'ye kadar yükselmekte ve yaklaşık her 10 ile 20 dakikada bir 1 pH'lık azalışlarla tekrar eski değerine dönmektedir (2). Bu çalışmada in vitro şartlarda *B. bifidum* DSMZ 20056'un canlı kalması üzerine düşük pH'nın etkisi araştırılmıştır.

#### **Materyal ve Yöntem**

**Probiyotik kültür:** Liyofilize haldeki *Bifidobacterium bifidum* (DSMZ 200456) suşu Almanya'dan (Amtsgericht Braunschweig) temin edilmiştir. Probiyotik suş kullanılmadan önce üreticinin talimatına göre dikkatlice açılmış ve MRS broth içerisinde arka arkaya 3 kez aktifleştirilmiştir. MRS agarda çoğaltılan kültürler steril özeye toplanıp kullanılmaya kadar %20'lik gliserol içerisinde -80 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

#### ***B. bifidum*'un aside dirençliliğinin belirlenmesi**

*B. bifidum* DSMZ 20056'un düşük pH'da canlı kalma yeteneği Erkkila (13) tarafından verilen yöntem modifiye edilerek araştırılmıştır. *B. bifidum* MRS agarda 30°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra, 1 koloni oluşturan birim steril özeye alınarak içerisinde 10 ml steril fizyolojik tuz (PBS) çözeltisi içeren deney tüplerine eklenmiş ve karıştırılmıştır. Bu tüplerden alınan 0,5 ml bakteri süspansiyonu, pH değerleri 1; 2,5; 3,5 ve 5,5'e ayarlanan (8 M HCl ile), içerisinde 10 ml steril fosfat tamponlu tuz çözeltisi bulunan tüplere aşılınmış ve 37°C'de 0, 1, 2 ve 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Canlı mikroorganizma sayısı, belirtilen sürelerin sonunda MRS agara ekim yapılarak, 30°C'de 48 saat inkübasyon sonunda belirlenmiştir.

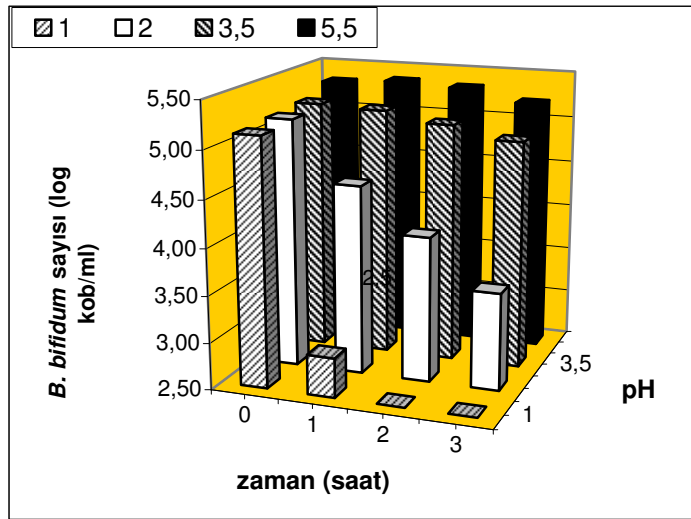
#### **Bulgular ve Tartışma**

Midenin tamamen boşalması maksimum 2-4 saat sürdüğünden, aside dayanıklılık testlerinde 3 saatlik süre esas alınmıştır. En yüksek *B. bifidum* sayısı (5,373 log kob/ml) inkübasyon süresinin başında kontrol grubunda, en düşük sayı (0,923 log kob/ml) pH'sı 1'e ayarlanmış PBS içerisindeki tüpte 3 saat sonra tespit edilmiştir (Çizelge 1). pH değeri x inkübasyon süresinin *B. bifidum* sayısına etkisi istatistiki olarak önemli (P<0,01) bulunmuş, interaksyonun seyri Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekilden de izlenebileceği gibi pH 1 seviyesindeki 1 saatlik inkübasyon sonunda *B.*

*bifidum* sayısı önemli derecede azalmış, 3 saat sonra ise *B. bifidum* sayısı <1 log kob/ml seviyesine kadar düşmüştür. pH 2,5 seviyesindeki ortalama *B. bifidum* sayısı 4 log kob/ml olmasına rağmen değerler kontrol grubundan düşük bulunmuştur. pH 3,5 seviyesinde bulunan sayılar ise kontrol grubuna paralel seyretmiştir. Araştırmada pH 3,5 seviyesinde belirlenen *B. bifidum* sayılarının Godward *et al.* (21) tarafından pH 2 seviyesinde *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. pseudolongum*, *B. longum* ve *B. adolescentis* türleri için bulunduğu değerlerden düşük, Olejnik *et al.* (2) tarafından pH 3,5 seviyesinde 1 adet *B. bifidum* suşu için bulunan değerlere ise benzer olduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Farklı pH seviyelerinde belirlenen *B. bifidum* sayıları (log kob/ml)

İnkübasyon süresi (saat)	<i>B. bifidum</i> sayıları (log kob/ml)				Ortalama
	pH 1	pH 2,5	pH 3,5	pH 5,5 (Kontrol)	
1	2,923	4,525	5,176	5,373	4,499
2	2,099	4,050	5,079	5,332	4,140
3	0,923	3,540	4,943	5,231	3,659
En düşük	0,923	3,540	4,943	5,231	3,659
En yüksek	2,923	4,525	5,176	5,373	4,499
Ortalama	1,982	4,038	5,066	5,312	4,100



Şekil 1. *B. bifidum* sayısı üzerine etkili olan pH değeri x inkübasyon süresi interaksiyonu

### **Kaynaklar**

1. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T. 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 44 (1/2) 93-106.
2. Olejnik A, Lewandowska M, Obarsa M, Grajek W. 2005. Tolerance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains to low pH, bile salts and digestive enzymes. *Electronic J Polish Agricultural Universities*, 8 (1) 1-12.
3. Guarner F, Schaafsma GJ. 1998. Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 39: 237-238.
4. Kailasapathy K, Chin J. 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol. Cell Biol.*, 78: 80-88.
5. Holzapfel WH, Schillinger U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.*, 35: 109-116.
6. Avonts L, Uytven EV, De Vuyst L. 2004. Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. *Int. Dairy J.*, 14 (11) 947-955.
7. Heenan CN, Adams MC, Hosken RW, Fleet GH. 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented vegetarian dessert. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 37: 461-466.
8. Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, Van Sinderen D. 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 16: 198-203.
9. Ouwehand AC, Kirjavainen PV, Grönlund MM, Isolauri E, Salminen SJ. 1999. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. *Int. Dairy J.*, 9: 623- 630.
10. Rogelj I, Bogovic BM, Majhenic AC, Stjkovic A. 2002. The survival and persistence of *Lactobacillus acidophilus* LF221 in different ecosystems. *Int. J. Food Microbiol.*, 76: 83-91.
11. Kalantzopoulou G. 1997. Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe*, 3: 185- 190.
12. Shortt C. 1999. *The probiotic century: historical and current perspectives. Trends Food Sci. Tech.*, 10: 411-417.
13. Erkkilä S. 2001. Bioprotective and Probiotic Meat Starter Cultures or the Fermentation of Dry Sausages. University of Helsinki Department of Food Technology, Helsinki.
14. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, 11: 1-17.
15. Ouwehand A, Tuomola EM, Tolkkio S, Salminen S. 2001. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *Int. J. Food Microbiol.*, 64: 119-126.
16. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 8: 279-289.
17. Gueimonde M, Delgado S, Mayo B, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Reyes- Gavilan CG. 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Res. Int.*, 37: 839-850.
18. O'Sullivan DJ. 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. *Agric. Food Chem.*, 49 (4), 1751-1760.
19. Sanders ME, Klaenhammer TR. 2001. The scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. *J. Dairy Sci.*, 83(2) 319-331.
20. Zavaglia A, Kociubinski G, Perez P, Disalvo E, Antoni G. 2002. Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. *J. App. Microbiol.*, 93: 794-799.
21. Godward G, Sultana K, Kailasapathy K, Peiris P, Arumugaswamy R, Reynolds N. 2000. The importance of strain selection on the viability and survival of probiotic bacteria in dairy foods. *Milchwissenschaft*, 55 (8) 441-445.