

Probiyotikli devam formülünde probiyotiğin canlılık çalışması

Selda Bulca¹, Rana Ağalday²

Cite this article as:

Bulca, S., Ağalday, R. (2020). Probiyotikli devam formülünde probiyotiğin canlılık çalışması. *Food and Health*, 6(2), 98-109. <https://doi.org/10.3153/FH20011>

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi Gıda
Mühendisliği Bölümü/Aydın, Türkiye

² Keçicik Süt Endüstrisi ve Gıda Sanayi
Ticaret A.Ş., Ova Evleri No: 29 Cincin
Köyü Koçarlı/Aydın, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

S.B. 0000-0001-7405-2872

R.A. 0000-0002-4084-3403

Submitted: 04.08.2019

Revision requested: 05.11.2019

Last revision received: 15.11.2019

Accepted: 06.12.2019

Published online: 14.02.2020

Correspondence: Selda BULCA

E-mail: sbulca@adu.edu.tr



©Copyright 2020 by ScientificWebJournals

Available online at

<http://jfh.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Son yıllarda tüm dünyada sağlık problemlerinin ve hastalıkların artışıyla beraber tüketicinin fonksiyonel gıdalara olan talebi de artış göstermiştir. Probiyotikli ürünlerin üretiminde hammadde olarak sütün kullanımıyla probiyotikli yoğurt, probiyotikli kefir, probiyotikli peynir, probiyotikli dondurma, probiyotikli ayran, hatta probiyotikli dondurulmuş sütlü tatlılar ve probiyotikli peynir altı suyu içeren içecekler üretilmiştir. Bu şekilde bu ürünlerden vücudun temel besin öğeleri gereksinimini karşılamının dışında insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerinde faydalar sağlaması ve hastalık riskinin azaltılması gibi faydalı etkiler beklenmektedir. Yukarıda belirtilen faydalı etkilerinden dolayı bu çalışmada, probiyotik olarak liyofilize formdaki *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) ve prebiyotik olarak fruktooligosakkarit keçi sütü bazlı devam formülüne eklenmiş ve devam formülünün nem oranları, pH değeri ve *B. animalis* subsp. *lactis*'in canlılığı 3, 15 ve 30 gün oda sıcaklığında depolama sırasında araştırılmıştır. 30 günlük çalışmada, nem ilk gün %2.79 ve son gün %2.78 bulunmuştur. Ürünün pH değeri ilk gün 6.97; son gün 6,86'dır ve anlamlı farklılık göstermemiştir. Canlılık çalışmasında *B. animalis* subsp. *lactis* (BB-12)'in ilk sayımları 7.53 log kob/g'dır, son gün ise 7.42 log kob/g'dır ve anlamlı farklılık göstermemiştir. Sayımların sağlık yararlarını sağlamak için önerilen ekleme seviyesinin (6 log kob/g) üzerinde kaldığı saptanmıştır. Ayrıca, nem oranı ve pH değerleri anlamlı farklılık göstermemiştir

Anahtar Kelimeler: Devam Sütü, Keçi Sütü, Fruktooligosakkarit, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12)

ABSTRACT

Vitability study of probiotic in probiotic follow-up formula

In recent years, with increasing health problems and diseases all over the world, consumer demand for functional foods has increased. By using milk as a raw material in the production of probiotic products, probiotic yoghurt, probiotic kefir, probiotic cheese, probiotic ice cream, probiotic buttermilk, probiotic frozen milk desserts and drinks that contain probiotic whey have been produced. In this way, these products are expected not only to meet the body's essential nutrient requirements but also provide beneficial effects on human physiology and metabolic functions, and as well as reducing the risk of disease. Due to the above mentioned beneficial effects in this study, lyophilized *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) as probiotic and fructooligosaccharide as prebiotic were added to a goat milk based follow-up formula and the moisture content, pH value and the viability of the *B. animalis* subsp. *lactis* during storage of 3, 15 and 30 days at room temperature were determined. In the 30-day study, moisture was 2.79% on the first day and 2.78% on the last day. The pH value of the product was 6.97 on the first day; 6.86 on the last day and showed no significant difference. In the viability study, *B. animalis* subsp. *lactis* was 7.53 log cfu/g on the first day and 7.42 log cfu/g on the last day and showed no significant difference. The counts were found to be above the recommended addition level (6 log cfu/g) to provide health benefits. In addition, the moisture contents and pH values did not show a significant difference.

Keywords: Follow-Up Formula, Goat Milk, Fructooligosaccharide, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12)

Giriş

Bebekler için anne sütü ideal besin kaynağıdır ve doğumdan sonraki ilk 6 ay boyunca tek besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Fakat bazen annenin bebeği emziremediği ya da emzirmenin yetersiz olduğu durumlarda karşılaşılabılır. Böyle durumlarda bebek formülleri ve devam formüllerinden yararlanılmaktadır.

Devam formülleri, 6 ay ve üzeri bebeklerin ve küçük çocukların dengeli beslenmesi ve diyetin bir parçası olarak kullanılmaktadır. Altıncı aydan sonra tamamlayıcı beslenmeye başlama kararı bebeğin büyüme ve gelişim ihtiyaçları doğrultusunda verilmelidir (TGK, 2014).

Probiyotikler; bağırsak patojenlerinin inhibisyonu, bağırsıklık sisteminin aktivasyonu ve bağırsaklarda mikrobiyal dengenin düzenlenmesi gibi sağlığı teşvik edici etkileri nedeniyle son yıllarda önem kazanan bakterilerden birisidir (Liong, 2007).

Oligosakkaritler, prebiyotik olarak bilinir ve kalın bağırsakta patojen bakterilerin sayısını sınırlayan, probiyotik bakterilerin gelişimini teşvik eden ve sindirilemeyen karbonhidratlar olarak tanımlanırlar (Chandan, 1997; Roberfroid, 2000; Shah, 2001; Holzapfel ve Schillinger, 2002).

Keçi sütünün ve probiyotiklerin beslenmedeki önemi bilinmektedir ve bu ürünlere ilgi günden güne artış göstermektedir. Probiyotiklerin iyi bir gelişme ve asitlendirme performansı gösterebilmesi için ona uygun bir prebiyotik seçilmesi de önemli bir noktadır. Ancak piyasada bulunan devam formülleri incelendiğinde çoğunun ham maddesinin inek sütü olduğu ve keçi sütüne dayalı formülasyona sahip sınırlı sayıda ürün bulunduğu saptanmıştır. Bu ürünlerin yine büyük bir çoğunluğu probiyotik ilavesiz olduğu bilinmektedir.

Laktik asit bakterileri; laktik asit, asetik asit üretimlerinin yanısıra bakteriyosin de üretmelerinden dolayı antibakteriyel etkiye sahip bakterilerdir. Oluşturdukları asitten dolayı bağırsak ortamının pH'sını düşürerek patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engellerler. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* özellikle anne sütü ile beslenen bebek bağırsak mikroflorasında yaygın olarak bulunmakta ve bu bölgede toplam bakteri popülasyonunun büyük bölümünü oluşturmaktadır. Ayrıca kompleks oligosakkaritleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadırlar (Garrido vd., 2013).

Araştırma bulguları; oligosakkaritler, prebiyotikler ve probiyotikler gibi çeşitli fonksiyonel gıda bileşenlerinin, bebeklerin bağırsak mikroflorasının bileşimi ve aktivitesinde yararlı etkilerinin bulunduğunu göstermiştir (Mountzouris vd., 2002). En çok kullanılan fonksiyonel bileşenlerden birisi de probiyotiklerdir. Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında konakta bir sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar

olarak tanımlanırlar (Guarner vd., 2005). Probiyotiklerin yaygın kullanım alanlarından birisi gastrointestinal sistemdir.

Bebeklerde akut ishal sık görülen enfeksiyonlar arasındadır. Yapılan birçok kontrollü çalışma, probiyotiklerin çocukluk çağı akut ishallerinin süresini kısalttığını göstermiştir (Vanderhoof ve Young, 2004; O'Sullivan vd., 2005). Nekrotizan enterokolit (NEK) kanlı dışkılama ile karakterize edilen, özellikle 1500 gramın altındaki prematürelere olmak üzere yeni doğan döneminde görülen ve hayatı tehdit eden bir enfeksiyondur (Martin ve Walker, 2008). Düşük doğum ağırlıklı prematüre bebeklerin bağırsak florasında *Clostridium perfringens* ve *Escherichia coli* baskın floranı oluşturmaktadır. Nekrotizan enterokolit (NEK) teşhisi konan bebeklerin %40'nın bağırsaklarında *Lactobacillus* cinsine ait türlerin oranının azalmış olduğu saptanmıştır. Bu bulgu bizlere *Lactobacillus* oranının azalması ile nekrotizan enterokolit arasında bir bağlantı olabileceğini göstermektedir (Bin-Nun vd., 2005). Probiyotiklerin antibiyotik kullanımı sonucu oluşan diyare, *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, alerji, yüksek kolesterol üzerine de faydalarının olduğu da çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Macfarlane ve Cummings, 2002).

Ayrıca gıdalardaki canlı probiyotik organizmaların, farklı kökenli diyarelerin azaltılması ve önlenmesi, bağırsak mikrobiyal dengesinin iyileştirilmesi, laktoz intoleransının hafifletilmesi, bağırsıklık sisteminin güçlendirilmesi, antitümör ve antihipertansif özellikleri gibi bilimsel olarak belirlenmiş ve/veya klinik olarak kanıtlanmış sağlık etkilerinin olduğu da tespit edilmiştir (Liong, 2007). Probiyotikler potansiyel sağlık yararları nedeniyle, genellikle süt preparatlarına sağlıklı fonksiyonel ürünler elde etmek için ilave edilmektedir (Pinto vd., 2006).

Probiyotiklerin yararlı etkiler sergilemeleri için, probiyotik organizmaların sayısının en az 10^6 kob/g olması gerekir (Yeo ve Liang, 2010). Minimum terapötik doz ise günlük olarak 1 gramda 10^8 - 10^9 canlı hücredir ve bu da 10^6 - 10^7 kob/g canlı hücre içeren 100 g ürün tüketilerek karşılanabilmektedir (Yeo ve Liang, 2010). Tüketicinin sağlık konusundaki farkındalığının artması, probiyotik içeren fonksiyonel gıdalara olan talebi artırmıştır (Liong, 2007).

Probiyotikler, konakçı sağlığını artırabilen, kolonda bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyararak konakçıya fayda sağlayan sindirilemeyen gıda bileşenleridir (Gibson ve Roberfroid, 1995). Probiyotikler, mide ve ince bağırsakta sindirilmeden kalın bağırsağa geçer ve burada bulunan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi probiyotiklerin gelişimlerini ve aktivitelerini desteklerler (Yıldırım vd., 2003). Probiyotik özelliğe sahip en önemli gıda bileşenleri fruktooligosakkarit, inülin, galaktooligosakkarit,

glukooligosakkarit, ksilooligosakkarit, izomaltooligosakkarit, gentiooligosakkarit, laktuloz, laktosukroz, polidekstroz, pirodekstrin ve rafinozdur (Holzapfel ve Schillinger, 2002; Gibson ve Roberfroid, 1995; Ziemer ve Gibson, 1998).

Oligosakkaritler prebiyotik özelliğe sahiptir ve kalın bağırsakta patojen bakterilerin sayısını sınırlamaktadırlar. Fruktooligosakkaritler, galaktooligosakkaritler, ksilooligosakkaritler, laktuloz gibi pek çok ürün prebiyotik özelliğe sahiptir. Bu ürünler arasında gıda endüstrisinde özellikle bebek formüllerinde kullanılanlar çoğunlukla galaktooligosakkaritler ve fruktooligosakkaritlerdir (Garrido vd., 2013). Türk Gıda Kodeksi Devam Formülleri Tebliği'nde de (TGK, 2014) devam formüllerine fruktooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritlerin ilave edilmesine izin verilmiştir. İlave edilmesi durumunda, bunların miktarı, kullanıma hazır üründe 0,8 g/100 ml'nin üzerinde olmaması gerektiği belirtilmiştir.

Galaktooligosakkarit, substrat olarak laktoz kullanılarak, maya veya bakterilerden elde edilen β -galaktosidazlar ile enzimatik transgalaktosilasyon yoluyla sentezlenen bileşiklerdir (Bode, 2012).

Fruktooligosakkarit (FOS) ve inülin son zamanlarda prebiyotik olarak dikkat çekmektedir. FOS, glukozidik bağlarla bağlanmış 2–10 fruktoz ünitesini içerirken, inülin, 3-60 birim arası zincirlere sahip çeşitli fruktanlar içermektedir (Rossi vd., 2005). FOS, çoğunlukla hindiba gibi *Compositae* ailesine ait bitkilerden enzimatik sentez yoluyla elde edilir ve çoğunlukla β -2,1 bağlı inülin tipli fruktoz oligomerleridir (Bode, 2012). Fruktooligosakkarit, kalsiyum ve minerallerin emilimi, şeker ve yağın gıda ürünlerinde yer değiştirmesi, kolesterolün azaltılması, çeşitli hastalıkların kontrol altına alınması gibi bilimsel olarak kanıtlanmış sağlık yararları olan, kansinojenik olmayan, düşük kalorili bir prebiyotiktir (Bali vd., 2015).

Memeli sütleri karşılaştırıldığında oligosakkarit içeriği en yüksek olan insan sütüdür (700-1200 mg/100 mL). Keçi sütü (25-30 mg/100 mL), inek sütüyle (2-3 mg/100 mL) karşılaştırıldığında daha yüksek oranda oligosakkarit içeriğine sahip olup, bu özelliği bakımından anne sütüne daha yakındır. Keçi sütünde bulunan oligosakkaritler miktar olarak fazla olmalarının yanında, çeşitlilik açısından da inek ve koyun sütüne göre daha zengindir (Martinez, 2006).

Son yıllardaki araştırmalar, insan sütü oligosakkaritlerinin biyoaktivitesinin anahtar yapısal unsurlarının keçi sütü içerisinde de bulunduğunu göstermektedir. Bu nedenle keçi sütünün fonksiyonel bir gıda olduğu düşünülmektedir (Bode, 2012).

Dünya piyasasını araştırdığımızda keçi sütü bazlı birçok ürün bulunmaktadır. Örneğin tam yağlı mineral ve vitamin katkılı

keçi sütü tozları, koyulaştırılmış keçi sütü, keçi sütü yoğurdu tozu, çikolata ve meyve aromalı keçi yoğurdu, anne sütünü artırıcı takviye keçi sütü ve çocuklar için keçi sütü bazlı çikolatalar gibi ürünler teknolojik olarak üretilmektedir.

Ancak piyasadaki mevcut bebek formülü ve devam formüllerine bakıldığında üretimlerinde genellikle inek sütü kullanılmaktadır (Gürsel, 2007).

İnek sütüne kıyasla keçi sütünün α sı-kazein seviyesi daha düşük olduğu için daha yumuşak kazein pıhtısı oluşturur. Bu sebeple keçi sütü proteinleri, inek sütü proteinlerinden daha kolay sindirilir (Raynal vd., 2008; Ribeiro, 2010). Ayrıca keçi sütü, inek sütüne göre daha küçük çaplı yağ globülleri içerir. Bu küçük çaplı yağ globülleri de sütte daha homojen bir yağ dağılımı sağlar. Keçi sütü kısa ve orta zincirli tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olup, 6-10 karbonlu olanların oranı inek sütündekinin iki katı kadardır (Alichanidis ve Polychroniadou, 1996; Alonso vd., 1999). Orta zincirli yağ asitlerinden, özellikle kaprilik (C8:0) ve kaprik (C10:0) asitler, emilim ve metabolizma bozuklukları, kolesterol problemleri ve yetersiz beslenme bulguları sergileyen hastalarda tedavi edici nitelikler taşıdığı rapor edilmiştir.

Ayrıca keçi sütü inek sütünden daha etkili olarak bağışıklık sistemini güçlendirir ve antibakteriyel etkilere de sahiptir (Oliveira vd., 2015). Keçi sütü özellikle laktozdan türetilmiş kompleks oligosakkaritlerce zengindir. Keçi sütünde işlevsel oligosakkaritlerin keşfedilmesi, insan sağlığını iyileştirmede olanak sağlamaktadır. Özellikle bazı oligosakkaritlerin varlığı özel önem taşımaktadır çünkü bu maddeler prebiyotik özellikleri ve patojen bağlama aktiviteleriyle sağlık avantajlarına sahiptir. Bazı çalışmalarda keçi sütü oligosakkaritlerinin *in vivo* ortamda faydalı etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Keçi sütü insan sütüne oranla daha az miktarda laktoz içeriğine sahip olmasına rağmen, keçi sütünün insan sütü oligosakkarit profiline inek veya koyun sütlerinden daha yakın olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, keçi sütü oligosakkaritlerinin, özellikle bebek formüllerinin takviyesi için çok umut verici bir fonksiyonel gıda özelliği taşıdığını göstermektedir.

Probiyotik gıdalar, genel olarak içerisinde raf ömrü sonuna kadar yeterli miktarda canlı probiyotik mikroorganizma (10^6 kob/g) içeren ve bu canlılığı muhafaza eden ürünler olarak ifade edilir (TGK, 2006). FAO ve WHO tarafından hazırlanan rapora göre de gıdalarda kullanılan probiyotikler sindirim sistemi boyunca canlı kalabilmeli, gastrik sıvılara ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmalı, hızlı gelişebilmeli ve bağırsak sisteminde kolonize olabilmelidir. Ayrıca, probiyotikler etkili ve güvenli olmasının yanı sıra bu etkinliğini ürünün raf ömrü boyunca da sürdürebilmelidir (Tsuda ve Miyamoto, 2010).

Süt ürünlerinde bulunan probiyotiklerin canlılık kaybına neden olan başlıca etkenler, bakterilerin çoğalmasına bağlı olarak ortamda organik asitlerin birikmesi ile ürün pH'sının düşmesidir (Shah ve Jelen, 1990). Ağız yolu ile alınan probiyotiklerin intestinal bölgelere ulaşmadan önce midenin gastrik asit ortamından (pH 1,5-3,0) canlı olarak geçmesi gerekmektedir. Probiyotik bakterilerin düşük pH da özellikle de meyve sularında gelişimi oldukça güçtür. Bifidobakteriler laktobasillere göre asidik ortamda gelişmeye karşı daha hassastırlar ve asidik ortamda canlılıklarını kolayca kaybedebilmektedirler. Büyüme faktörlerinin mevcudiyeti, süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını da etkilemektedir (Pérez-Conesa vd., 2005).

Bifidobakteriler anaerobik koşullarda gelişen mikroorganizmalardır ve gıdalardaki sayılarında hızlı düşüşün, çözünmüş oksijen, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri (Carlsson vd., 1978) gibi oksijen türevlerine veya ambalajın oksijen geçirgenliğine bağlı olabileceği saptanmıştır.

Probiyotik gıdaların canlılıklarını etkileyen en önemli faktörlerden biri ürünün nem almasıdır. Probiyotik bakteri içeren gıdalarda nem oranının artması sonucu suyun doku içinde hareketliliği artarak probiyotiklerin canlılıklarında kayıplar meydana gelmektedir (Ying vd., 2010)

Weinbreck vd., (2010) tarafından yapılmış bir çalışmada süt ve süt ürünlerinde sık kullanılan bir probiyotik bakteri olan *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) suşunun enapsüle edilmiş ve edilmemiş formda üretildikten sonra yüksek oranda su aktivitesine maruz bırakılmış ve bunların depolama süresince canlılıkları tespit edilmiştir. Sonuçlar yüksek su aktivitesinin (0.7) enkapsüle edilmemiş LGG'nin canlılık oranını azalttığını ve 2 hafta içinde hücre canlılığında 10 logdan fazla bir kayba yol açtığı gösterilmiştir.

Probiyotik bakterilerin depolama koşullarına bağlı olarak canlılıklarını olumsuz yönde etkileyen bir diğer koşul depolama ortamındaki oksijen varlığı ve redoks potansiyelidir. Bu çalışmada bu faktör üzerine odaklanılmamış olmakla beraber probiyotiklerin ambalaj açıldıktan sonra oksijene maruz kalmaları durumunda canlılıklarının azalacağı da göz ardı edilmemelidir.

Bu çalışmanın amacı, keçi sütünün ve probiyotiklerin kullanım olanaklarının artırılmasına yönelik olarak probiyotik ve oligosakkarit ilaveli keçi sütü bazlı devam formülünde depolama süresince probiyotiğin canlılık, nem, pH değerlerini saptamaktır.

Materyal ve Metot

Materyal

Prebiyotik olarak fruktooligosakkarit (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

Test bakterisi olarak *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) kullanılmıştır.

Besiyeri olarak De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar (Merck Ürün Kodu: 1.10660.0500) kullanılmıştır. Ayrıca bacteriological peptone (Oxoid Ürün Kodu: LP0037), Phosphate buffered saline tablet (Sigma-Aldrich Ürün Kodu: P4417), L-sistein HCl anhydrous (Sigma-Aldrich Ürün Kodu: C1276), anaerobic jar (Merck Ürün Kodu: 1.16387.0001), Microbiologia Anaerocult A (Merck Ürün Kodu: 1.13829.0001), Microbiologie Anaerotest (Merck Ürün Kodu: 1.15112.0001) kullanılmıştır.

Ambalaj materyali olarak hermetik olarak kapatılmış teneke kutu kullanılmıştır. Ambalajlar, Silgan Öntaş Amb. San. ve Tic. A.Ş. (İzmir)'den temin edilmiştir.

Devam formülü üretimi, Keçicik Süt Endüstrisi ve Gıda Sanayi Ticaret A.Ş. (Aydın) firmasının bebek formülü ve devam formülü fabrikasında gerçekleştirilmiştir. Devam formülü üretiminde kullanılan keçi sütü ve diğer ham maddeler yine Keçicik firması tarafından sağlanmıştır.

Yöntem

Keçicik Süt Endüstrisi ve Gıda Sanayi Ticaret A.Ş. tarafından üretilen devam formülüne *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) ve fruktooligosakkarit ilave edilerek probiyotikli devam formülü üretimi gerçekleştirilmiş ve hermetik olarak kapatılmış 400 gramlık teneke kutular halinde ambalajlanmıştır. Probiyotikli devam formülünün 3 gün, 15 gün ve 30 gün süresince nem ve pH analizleri gerçekleştirilmiş ve devam formülünde probiyotiğin canlılığı test edilmiştir.

Üretilen toz devam formülünün kullanımı için hazırlanan örnek beslenme tablosu Tablo 1'de görüldüğü gibidir. 1 ölçek toz devam formülü yaklaşık 4.3 gramdır.

Tablo 1'deki örnek beslenme tablosuna göre günlük devam formülü tüketim miktarı; 4.3 gram x 8 doz x 4 günlük öğün sayısı = 137.6 gram / gün'dür. Ambalajlı 400 gramlık probiyotikli devam formülünün bitme süresi yaklaşık 3 gündür.

Tablo 1. Örnek beslenme tablosu**Table 1.** Table of example nutrition

Yaş (Ay)	Su (mL)	Ölçek sayısı	Günlük Öğün Sayısı
6-12 ay	240	8	4

Üç günlük çalışmada probiyotikli devam formülü tüketimi, evde annelerin devam formülünü kullanımı taklit edilerek tasarlanmıştır. Birinci gün, kutu açılmıştır ve takip eden her gün, bebek tarafından günlük olarak tüketilmesi gereken miktarda probiyotikli devam formülü kutudan alınmış ve tüm ambalaj (400 g) bitinceye kadar yani 3 gün boyunca devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve devam formülünde probiyotiğin canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir.

İkinci bir çalışmada kutu açıldıktan sonra 15 gün süresince devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve devam formülünde probiyotiğin canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz edilecek bir numune alındıktan sonra kalan probiyotikli devam formülü oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Üretilen probiyotikli devam formülünün 400 gramlık kapalı teneke kutuda 1 ay boyunca depolanması süresince de devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve devam formülünde probiyotiğin canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz edilecek bir numune alındıktan sonra kalan probiyotikli devam formülü oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Canlılık analizleri için probiyotikli devam formülünden 10 g alınıp 90 mL PBS içerisinde (Macfarlane ve Englyst 1986; Ingham 1999) süspanse edilmiş (ilk dilüsyon) ve 30 dakika oda sıcaklığında numunenin dağılımına kadar tutulmuştur. Daha sonra bu ilk dilüsyondan başlayarak % 0.1 lik peptonlu su içerisinde seri dilüsyonlar hazırlanmış ve numunenin seri dilüsyonlarından 3'er paralel olarak çalışılmıştır.

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* (BB-12) sayımı L-sistein HCI ile desteklenmiş MRS agar ile 2 katlı dökme plak yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Petriler, 37°C sıcaklıkta 48 saat anaerobik kavanoz ve anaerocult A yardımıyla sağlanan anaerobik ortamda inkübe edilmiştir. Böylece test bakterisi sayımları gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar log kob/g olarak belirlenmiştir.

200 mL saf suya 1 adet Phosphate buffered saline (PBS) tablet eklenmiş, magnetik karıştırıcıda homojen olarak karıştırma sonucu PBS sıvı ortamı elde edilmiştir.

0.1 g bakteriyolojik pepton tartılıp 100 mL balonjojede saf su ile tamamlanmıştır. Magnetik karıştırıcıda homojen dağılımı sağlanıp %0.1 (w/v)'lik bakteriyolojik peptonlu su elde edilmiştir. Daha sonra 9 mL'lik tüplere dağıtılıp otoklavlanmıştır.

Infrared nem tayin cihazı (Sartorius MA35) kullanılarak belirlenmiştir. Cihazın alüminyum ölçüm kabının darası alınarak 2.5 g numune tartılıp 105°C'de cihaz çalıştırılmıştır. Numunenin nemin uçurularak sabit ağırlığa ulaşması ilkesine dayanarak termogravimetrik yöntem ile % nem olarak ürün-deki nem miktarı belirlenmiştir.

Ürünün pH ölçümleri, pH metre (Mettler Toledo seven2go, Almanya) ile yapılmıştır.

Sonuçlar ANOVA analizi gerçekleştirilerek SPSS paket programı (IBM SPSS Statistics V21 x 86, Chicago, IL) kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen verilere Duncan Çoklu Karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

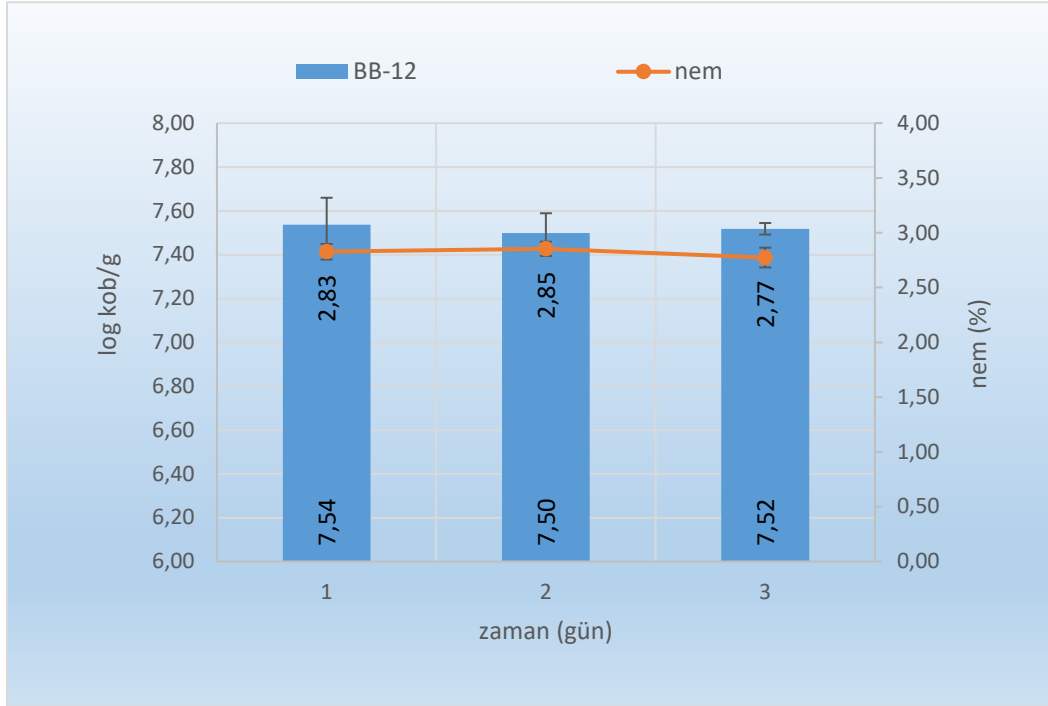
Üç günlük çalışmada birinci gün devam formülü kutusu açılmıştır ve takip eden her gün, bebek tarafından günlük olarak tüketilmesi gereken miktarda (137,6 g) probiyotikli devam formülü kutudan alınmış ve tüm ambalaj (400 g) bitinceye kadar yani 3 gün boyunca devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve devam formülünde probiyotiğin canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Probiyotikli devam formülünde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12)'in 3 gün boyunca canlılığı ve probiyotikli devam formülünün nem değerleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Üç günlük çalışmada probiyotikli devam formülünün pH değerleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

Üç gün boyunca yapılan çalışmada, probiyotikli devam formülünden örnekler alınmıştır. Devam formülünün nem içeriğinde bir artış olup olmadığını belirlemek için numunelerin nemi ölçülmüştür. Nem % 2.77 ile % 2.83 arasında değişmiş, istatistiksel açıdan anlamlı fark göstermemiştir. Bifidobacterinin canlılığını etkileyen diğer bir faktör, probiyotik bakterileri içeren ürünün pH'sıdır. Ürünün pH değeri ilk gün 6.92 ve son iki gün 6,89 bulunmuştur ve anlamlı farklılık göstermemiştir. Canlılık çalışmasında *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12)'in ilk sayımları 7.54 log kob/g iken 3. gün bu değer 7.52 log kob/ml olarak saptanmış olup istatistiki açıdan anlamlı farklılık göstermemiştir. Sayımların sağlık yararlarını sağlamak için önerilen ekleme seviyesinin (6 kob/g) üzerinde kaldığı saptanmıştır.

Bir başka deneme olarak da kutu açıldıktan sonra 15 gün süresince devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve

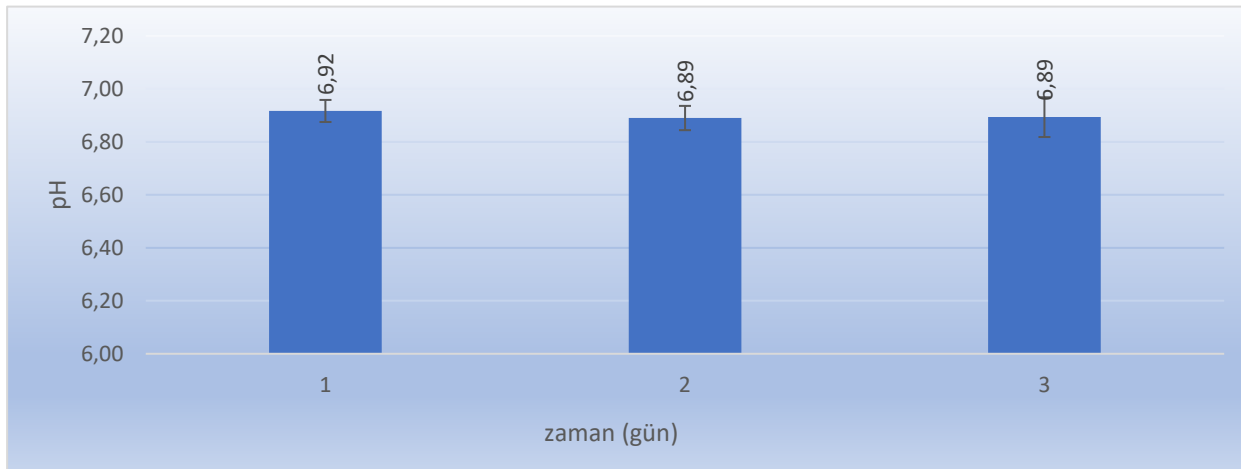
devam formülünde probiyotiğin canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz edilecek bir numune alındıktan sonra kalan probiyotikli devam formülü oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Probiyotikli devam formülünde *Bifidobacterium ani-*

malis subsp. *lactis* (B-12)'in 15 gün boyunca canlılığı ve devam formülünün nem değerleri Şekil 3'te görüldüğü gibidir. 15 günlük çalışmada probiyotikli devam formülünün pH değerleri de Şekil 4'te gösterilmiştir.



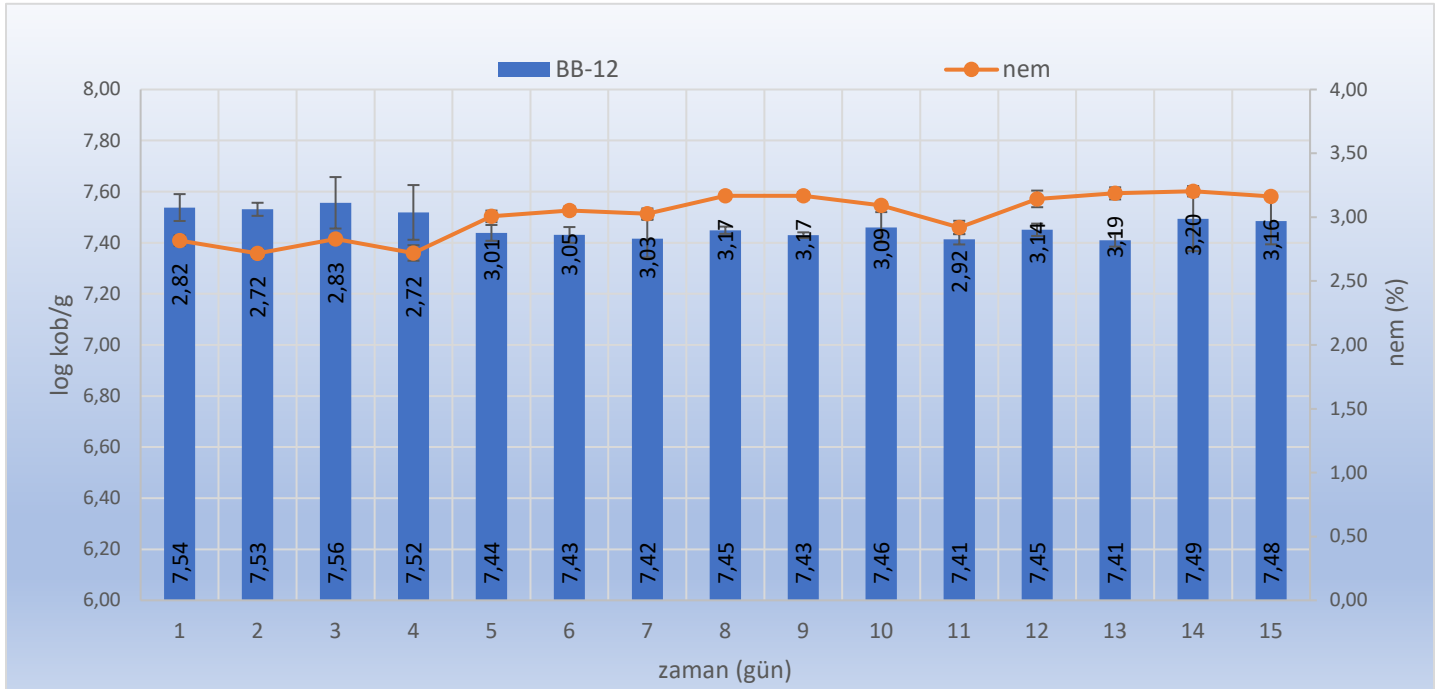
Şekil 1. Fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün kutu açıldıktan sonra 3 günlük depolama sürecinde canlılık ve nem değerleri

Figure 1. The moisture and the viability values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide after opening the box during 3 days of storage



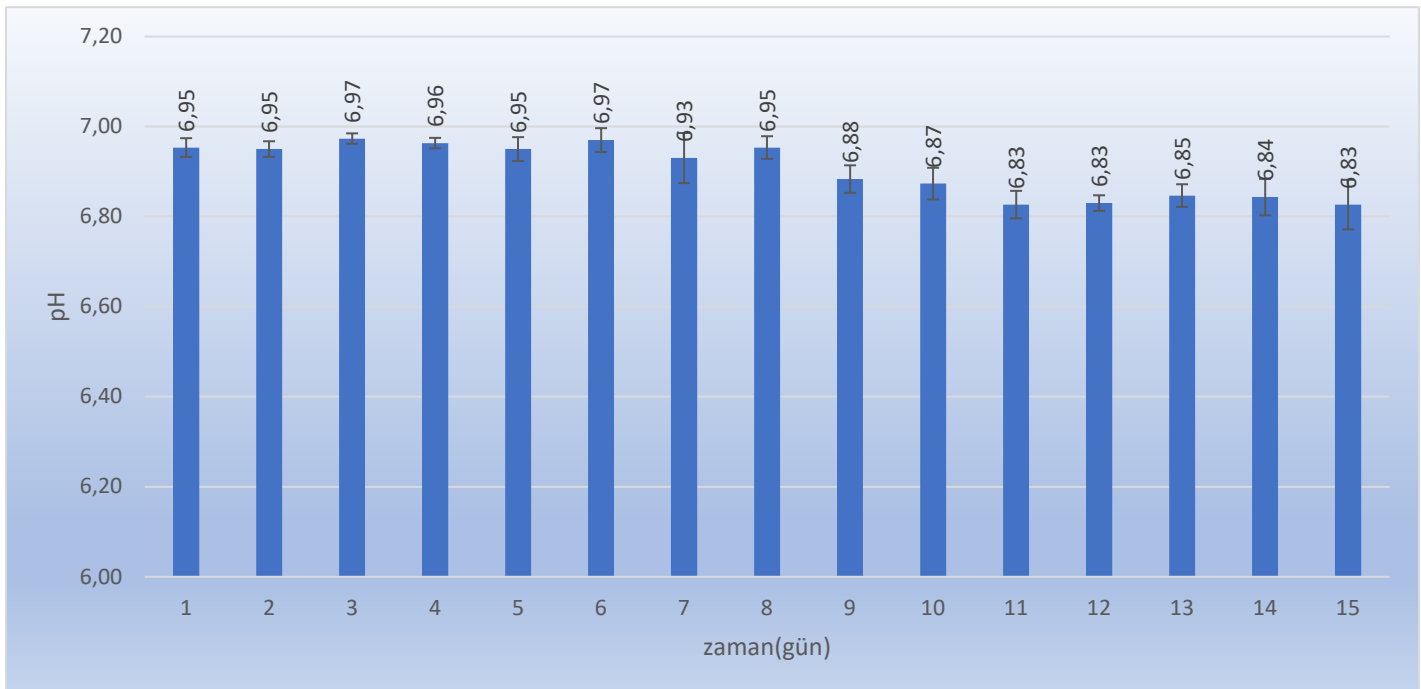
Şekil 2. Fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün kutu açıldıktan sonraki 3 günlük depolama sürecinde pH değerleri

Figure 2. pH values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide after opening the box during 3 days of storage



Şekil 3. Fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün 15 günlük depolama sürecinde canlılık ve nem değerleri

Figure 3. The moisture and the viability values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide during 15 days of storage



Şekil 4. Fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün 15 günlük depolama sürecinde pH değerleri

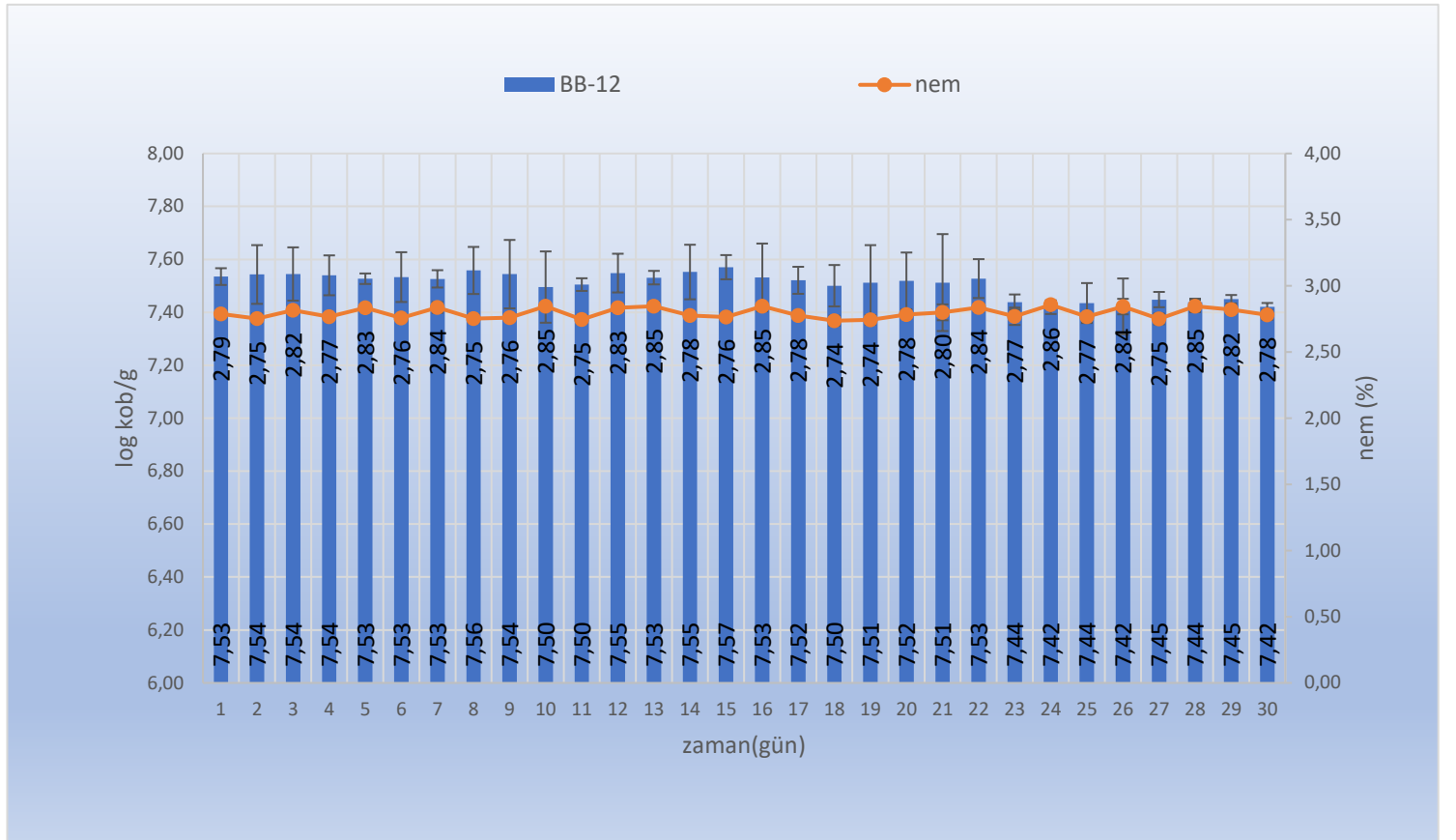
Figure 4. pH values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide during 15 days of storage

3 ve 15 günlük depolama analizleri için birer adet paket açılmış ve kapakları açıldıktan sonra 3 ve 15 günlük periyotlar halinde ürün oda sıcaklığında depolanmış ve canlılık, pH ve nem değerleri tespit edilmiştir.

Şekil 3'te görüldüğü gibi nem oranlarının 15 günlük çalışmada % 2.72 ile % 3.2 arasında değiştiği saptanmıştır. Ürünün pH değeri de 6.83 ile 6.97 arasında değişmiştir. On beş gün boyunca yapılan çalışmada (Şekil 3), beşinci günde probiyotik sayımları azalmış, 7.44 log kob/g'a kadar düşmüş, ancak sağlık yararları sağlamak için önerilen ekleme seviyesinin (10^6 kob/g) üzerinde kalmıştır. Takip eden günlerde, sayımlar, 7.41 log kob/g'a kadar gerilemiştir. Ancak 3 günlük çalışmada da olduğu gibi, sayım son günde de önerilen ekleme seviyesinin üzerinde kalmıştır ve anlamlı farklılık göstermemiştir.

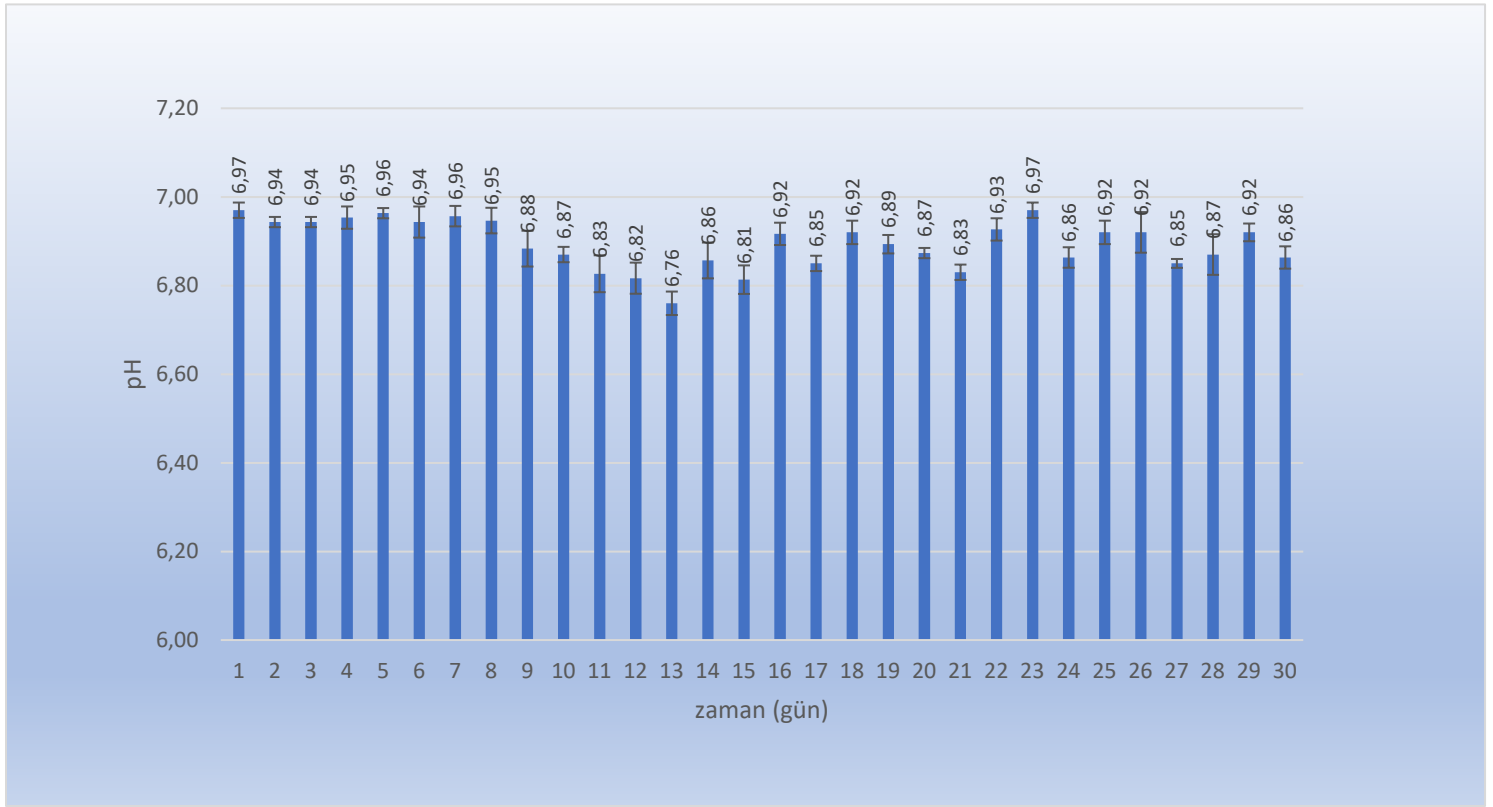
Üretilen probiyotikli devam formülünden 400 gramlık 30 adet ürün kapalı teneke kutuda ambalajlanmış ve her gün yeni bir kutu açıldıktan sonra günlük devam formülünün nem analizleri, pH analizleri ve devam formülünde probiyotik canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Probiyotikli devam formülünde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12)'in 30 gün boyunca canlılığı ve devam formülünün nem değerleri Şekil 5'te görüldüğü gibidir. 30 günlük çalışmada probiyotikli devam formülünün pH değerleri Şekil 6'da gösterilmiştir.

Nem 30 günlük çalışmada ise % 2.75 ile % 2.86 arasında değişmiştir. Ürünün pH değeri 6.76 ile 6.97 arasında saptanmıştır. 30 gün boyunca yapılan çalışmada, sayımlar 7.42 log kob/g'a kadar düşmüştür. Ancak *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) sayısı son günde de önerilen ekleme seviyesinin üzerinde kalmıştır ve anlamlı farklılık göstermemiştir.



Şekil 5. Fruktoooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün 30 günlük depolama sürecinde canlılık ve nem değerleri

Figure 5. The moisture and the viability values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide during 30 days of storage



Şekil 6. Fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) ilaveli devam formülünün 30 günlük depolama sürecinde pH değerleri

Figure 6. pH values of the follow-up formula supplemented with *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) and fructooligosaccharide during 30 days of storage

Süt ürünlerinde bifidobakterilerin yaşayabilirliği hakkında bilimsel birçok çalışma, çeşitli sürelerde buzdolabında saklanan yoğurtlar veya fermente süt ürünlerinde araştırılmıştır. Akalın vd. (2004)'ün çalışmasında yoğurt FOS ile takviye edilmiştir. FOS içeren yoğurtta *Bifidobacterium longum*'un canlılığı, 21 güne kadar 10^6 kob/g'ın üzerinde kalırken, herhangi bir prebiyotik içermeyen yoğurtta sadece 7 gün boyunca muhafaza edilmiştir. Bizim çalışmamızda, ürün pH değeri hiçbir zaman 6.81'in altına düşmemiş ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) sayısı önerilen ekleme seviyesi olan 6 log kob/ml'nin üzerinde kalmıştır.

Jayamanne ve Adams (2004)'ün çalışmasına göre plastik kaplarda fermente edilmiş manda sütlerinde, cam şişelerde fermente edilenlere kıyasla *Bifidobacterium longum* NCTC11818'in canlılığı önemli ölçüde azalmıştır. Bizim çalışmamızda ise hermetik olarak kapatılmış tenek kutu kullanılmış, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) sayısı önerilen seviyenin üzerinde kalmıştır.

Tedarik zincirinin (üretim, depolama, dağıtım araçları, ticari depolama yerleri ve ev koşulları) *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12'nin canlılığını etkileyebileceği hesaba katılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, probiyotikli devam formülünde *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) sayısının, probiyotikler için önerilen ekleme seviyesinin 10^6 kob/g üzerinde kaldığını göstermiştir. Bu duruma, muhtemelen toz formdaki devam formülünün oda koşullarında muhafaza edilmesi, pH stabilitesi, koruyucu atmosferde paketlenmesi, düşük nem seviyesi ve oksijen geçirimsiz ambalaj materyali kullanılması katkıda bulunmuştur.

Sonuç

Anne sütünün kullanılmasının mümkün olmadığı ya da yetersiz olduğu durumlarda buna alternatif gıdalar da bebek ve devam formülleri gibi özel ürünlerin kullanımı gündeme gelmektedir. Piyasada bulunan formüller incelendiğinde marketlerde ve eczanelerde bulunan bebek ve devam formüllerinin

çoğunun hammaddesinin inek sütüne dayalı olduğu görülmektedir. Sınırlı sayıda keçi sütüne dayalı formülasyona sahip ürün bulunmaktadır. Bu ürünlerin de yine büyük bir çoğunluğu probiyotik ilavesizdir. Son yıllarda keçi sütünün insanların beslenmesinde düşük alerjik etkileri nedeniyle daha yoğun kullanılması ve probiyotiklerin bilinen yararlı özelliklerinin bebek formülasyonlarında kullanılması bu çalışmanın ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bundan dolayı son yıllarda probiyotik bakteri içeren gıdaların sağlık üzerine olan olumlu etkilerinin tespit edilmesi bu ürünlere olan talebin artış göstermesi bu bakterilerin bebek mamasına ilave edilebileceğini de gündeme getirmiştir. Bu çalışmada fruktooligosakkarit ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) keçi sütü bazlı devam formülüne ilave edilmiş ve tüketileceği süre üzerinden canlılık çalışması yapılmıştır. Fermente süt ürünlerinde bifidobakterinin canlılığı için en önemli dezavantajlardan biri ürünün pH değerinin düşmesidir. Bizim çalışmamızda toz haldeki devam formülü, fermente edilmiş ürünlerden farklı olarak rekonstitüe edilip beklemeye hemen tüketildiği için pH değişimi çok olmamıştır.

Fruktooligosakkaritin daha karmaşık bir bakteriyel ortam üzerindeki etkisini değerlendirmek için daha fazla canlı model çalışması gerekmektedir. İleriki çalışmalarda canlı hücre hatları kullanılarak, hücre kültür analizleri ile *in vivo* çalışmaların yapılması oligosakkaritlerin test bakterileri üzerindeki etkisini değerlendirmek için daha uygun bir ortam sağlanacaktır.

Etik Standart ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Araştırma niteliği bakımından etik izin gerektirmemektedir.

Finansal destek: Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: MF 18003)

Kaynaklar

Akalın, A.S., Fenderya, S., Akbulut, N. (2004). Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 39(6), 613-621. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00829.x>

Alichanidis, E., Polychroniadou, A. (1996). Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. In Production

and utilization of ewe and goat milk, Crete (Greece), 19-21 Oct 1995. International Dairy Federation.

Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M. J., Juárez, M. (1999). Fatty acid composition of caprine milk: major, branched-chain, and trans fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 878-884.

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75306-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75306-3)

Bali, V., Panesar, P.S., Bera, M.B., Panesar, R. (2015). Fructo-oligosaccharides: production, purification and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1475-1490.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.694084>

Bin-Nun, A., Bromiker, R., Wilschanski, M., Kaplan, M., Rudensky, B., Caplan, M., Hammerman, C. (2005). Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *The Journal of Pediatrics*, 147(2), 192-196.

<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2005.03.054>

Bode, L. (2012). Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*, 22(9), 1147-1162.

<https://doi.org/10.1093/glycob/cws074>

Carlsson, J., Nyberg, G. Wrethen, J. (1978). Hydrogen peroxide and superoxide radical formation in anaerobic broth media exposed to atmospheric oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(2), 223-229.

<https://doi.org/10.1128/AEM.36.2.223-229.1978>

Chandan, R. (1997). Properties of milk and its components. Dairy-Based Ingredients. Eagan Press Handbook, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 1-10.

<https://doi.org/10.1094/9780913250945.001>

Garrido, D., Ruiz-Moyano, S., Jimenez-Espinoza, R., Eom, H.J., Block, D.E., Mills, D.A. (2013). Utilization of galactooligosaccharides by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* isolates. *Food microbiology*, 33(2), 262-270.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.003>

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.

<https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>

Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., Morelli, L. (2005). Should yoghurt cultures be considered probiotic?. *British Journal of Nutrition*, 93(6), 783-786.

<https://doi.org/10.1079/BJN20051428>

Gürsel, A. (2007). Süt esaslı ürünler teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayın No :1554 Ankara

Holzappel, W.H. ve Schillinger, U. (2002). Introduction to pre-and probiotics. *Food Research International*, 35(2-3), 109-116.

[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00171-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00171-5)

Jayamanne, V.S., Adams, M.R. (2004). Survival of probiotic bifidobacteria in buffalo curd and their effect on sensory properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 39(7), 719-725.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00835.x>

Liong, M.T. (2007). Probiotics: a critical review of their potential role as antihypertensives, immune modulators, hypocholesterolemics, and perimenopausal treatments. *Nutrition Reviews*, 65(7), 316-328.

<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00309.x>

Macfarlane, G.T., Cummings, J.H. (2002). Probiotics, infection and immunity. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 15(5), 501-506.

<https://doi.org/10.1097/00001432-200210000-00008>

Martin, C.R., Walker, W.A. (2008). Probiotics: role in pathophysiology and prevention in necrotizing enterocolitis. In *Seminars in perinatology* (Vol. 32, No. 2, pp. 127-137). WB Saunders.

<https://doi.org/10.1053/j.semperi.2008.01.006>

Martinez-Ferez, A., Rudloff, S., Guadix, A., Henkel, C.A., Pohlentz, G., Boza, J.J., Kunz, C. (2006). Goats' milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: Isolation by membrane technology. *International Dairy Journal*, 16(2), 173-181

<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.02.003>

Mountzouris, K.C., McCartney, A.L., Gibson, G.R. (2002). Intestinal microflora of human infants and current

trends for its nutritional modulation. *British Journal of Nutrition*, 87(5), 405-420.

<https://doi.org/10.1079/BJN2002563>

Oliveira, D.L., Wilbey, R.A., Grandison, A.S., Roseiro, L.B. (2015). Milk oligosaccharides: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 68(3), 305-321.

<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12209>

O'sullivan, G.C., Kelly, P., O'Halloran, S., Collins, C., Collins, J.K., Dunne, C., Shanahan, F. (2005). Probiotics: an emerging therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 11(1), 3-10.

<https://doi.org/10.2174/1381612053382368>

Pérez-Conesa, D., López, G., Rosau, G. (2005). Fermentation capabilities of bifidobacteria using nondigestible oligosaccharides, and their viability as probiotics in commercial powder infant formula. *Journal of food science*, 70(6), 279-285.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11447.x>

Pinto, M.G.V., Franz, C.M., Schillinger, U., Holzappel, W.H. (2006). Lactobacillus spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109(3), 205-214.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.029>

Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57-72.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>

Ribeiro, A.C., Ribeiro, S.D.A. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), 225-233.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.048>

Roberfroid, M.B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods?-. *The American Journal of Clinical nutrition*, 71(6), 1682-1687.

<https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1682S>

Rossi, M., Corradini, C., Amaretti, A., Nicolini, M., Pompei, A., Zannoni, S., Matteuzzi, D. (2005). Fermentation of

fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 6150-6158.

<https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.6150-6158.2005>

Shah, N., Jelen, P. (1990). Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *Journal of Food Science*, 55(2), 506-509.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06797.x>

Shah, N.P. (2001). Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55(11), 46-53.

TGK (2006). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliği. T.C. Resmi Gazete 07.07.2006, Sayı: 26221

TGK (2014). Türk Gıda Kodeksi, Devam Formülleri Tebliği. 2008/52. T.C. Resmi Gazete 15.08.2014, Sayı: 29089.

Tsuda, H., Miyamoto, T. (2010). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, 2002. *Food Science and Technology Research*, 16(1), 87-92.

Vanderhoof, J.A., Young, R.J. (2004). Current and potential uses of probiotics. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 93(5), 33-37.

[https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61730-9](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61730-9)

Weinbreck, F., Bodnar, I., Marco, M. L. (2010). Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products? *International Journal of Food Microbiology*, 136, 364-367

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.004>

Yeo, S.K., Liong, M.T. (2010). Effect of prebiotics on viability and growth characteristics of probiotics in soymilk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), 267-275.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.3808>

Yıldırım, Z., Bayram, M., Yıldırım, M. (2003). Probiyotik, prebiyotik ve insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu Bildiriler Kitabı. Bildiri, (P66).

Ying, D.Y., Phoon, M.C., Sanguansri, L., Weerakkody, R., Burgar, I., Augustin, M.A. (2010). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. *Journal of Food Science*, 75(9), 588-595.

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01838.x>

Ziemer, C.J. ve Gibson, G.R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *International Dairy Journal*, 8(5-6), 473-479.

[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00071-5)