

Peynir Teknolojisinde Enterokoklar –II: Koruyucu ve Probiyotik Kültür Olarak Kullanımları

Oğuz GÜRİSOY¹

Özer KINIK²

Summary

Enterococci in Cheese Technology-II: Their Usage as Bioprotective or Probiotic Culture

Enterococci are used as probiotic in some European countries; most of them are *Enterococcus faecium*, but some preparations also include *Enterococcus faecalis*. They have also potential important roles as bioprotective culture and acceleration of ripening in cheese technology. In this paper, we will discuss use of enterococci as bioprotective culture, ripening agent and probiotic culture in cheeses.

Key words: Enterococci, cheese, probiotic, bioprotective culture

Giriş

Peynirlerin doğal mikrofloralarında bulunabilen ve/veya starter kültür olarak peynire ilave edilebilen enterokokların, bazı önemli özellikleri nedeniyle peynir teknolojisinde koruyucu kültür, olgunlaşmayı hızlandırıcı ajan ya da probiyotik bakteri olarak kullanım potansiyelleri bulunmaktadır. Bu makalede enterokokların peynir teknolojisindeki koruyucu ve/veya olgunlaşmayı hızlandırıcı kültür olarak kullanım potansiyelleri ile probiyotik peynir üretiminde kullanımları son bulgular ışığında değerlendirilmiştir.

¹: Araş. Gör., Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir
e-mail: ogursoy@yahoo.com

²: Prof. Dr., Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir

Enterokokların Koruyucu Kültür ve Olgunlaşmayı Hızlandırıcı Olarak Kullanımı

Peynir pıhtısında bulunan kazeinler rennet ve sütte doğal olarak bulunan plazmin vasıtasıyla hidrolize edilerek peynir üretimi ve olgunlaşması sırasında büyük ve orta büyüklükteki peptitlere parçalanır. Bu peptitler starter laktik asit bakterilerinin peptidazları ile daha ileri seviyede parçalanarak küçük molekül ağırlığındaki peptitlere ve serbest amino asitlere kadar parçalanmaktadır. Aromatik, dallanmış zincirli ve sülfür içeren amino asitler uçucu aroma bileşiklerinin oluşumunda ön bileşiklerdir. Söz konusu bileşikler kısmen starter bakterilerin etkileriyle oluşurlar. Starter bakterilerin erken lizisi, hücre içi enzimlerin substratlara daha kolay ulaşmasını sağlamakta ve bu durum peynir aromasının gelişimini hızlandırabilmektedir. Olgunlaşma süresince stater bakterilerin lizis'ini arttırmak için kullanılan yaklaşımlar; (i) otolitik stater bakterilerin seçimi, (ii) litik bakteriyofajların kullanımı ve (iii) üretimde bakteriosin üreten destek kültürlerin kullanımı kavramlarını içermektedir (Oumer et al., 2001).

Bilindiği gibi bakteriosinler bazı bakteriler tarafından üretilen ve protein yada polipeptit yapısında olan makromoleküllerdir. Bunlar doğal antibiyotikler olarak değerlendirilmekle birlikte, klasik antibiyotiklerden farklı olarak mide ve ince bağırsaklardan geçerken proteazlar tarafından aminoasitlere parçalanmaktadırlar. Bu nedenle vücutta absorbe edilmezler ve kalın bağırsak florasına ulaşamazlar (Bayazit ve Yılsay, 2000). Enterokokların gıda sistemleriyle ilişkili birçok suşu ve özellikle de *E. faecalis* ve *E. faecium* enterosin'ler olarak adlandırılan çeşitli bakteriyosinleri üretme kabiliyetine sahiptirler. Enterokokların en bilinen enterosinleri; Enterosin A, Enterosin B, Enterosin P, Enterosin 50, Bakteriosin 31 ve AS-48 sitolisin'dir (Franz et al., 2003; Kavas ve Kınık, 2003). Söz konusu enterosinler *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp. (özellikle *Clostridium botulinum* ve *Clostridium perfringes*) ve *Vibrio cholerae*'ya karşı aktivite göstermektedir (Garde et al., 1997; Sarantinoupoulus et al., 2002, Giraffa, 2003). Enterosinler genellikle Sınıf II bakteriosinler grubunun bir üyesidirler ve genellikle güçlü anti-Listeriyal etkili ısıya stabil antibiyotiklerdir. Bir gıda antimikrobiyalı için gerekli koşulları karşılayan bu tip özellikler, gıda sistemlerinde biyoprezervatifler olarak enterosinlerin geniş (kapsamlı, yaygın) uygulamalarına imkan sağlamaktadır (Giraffa, 2003). Ancak yukarıda bahsedilen yaklaşımda önemli olan nokta enterosin üreten Enterokok türlerinin peynir üretimi sırasında ve sonrasında da bu

aktivitelerine devam etmeleri gerekliliğidir. Bakteriosin üretimi kompleks gıda sistemlerinde bir çok faktör tarafından etkilenebilir. Zira bakteriosin üreten bir bakteri olan *E. faecium* FAIR-E 198'un, peynir üretimi için süte inokulasyonu ve sonrasında enterosin üretmediği belirlenmiştir (Sarantinopoulos et al., 2002).

Enterosinlerin özellikleri ve enterosin üreten suşların süt teknolojisindeki potansiyel uygulamalarına ilişkin çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu açıdan enterosinlerin süt teknolojisinde kullanımı için; sütte 30-37°C'lerde enterokoklar tarafından üretilebilme ve stabilite, rennet ve ısıya karşı dayanım, starter laktik asit bakterileriyle uyum ve geniş bir pH aralığında stabilite gibi özelliklere sahip olmaları gerektiği sıklıkla bildirilmektedir (Giraffa, 1995, 2003).

Konu ile ilgili çalışmaların birinde Oumer et al. (2001), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* içeren mezofilik ticari starter kullanarak inek ve koyun sütü karışımından (4:1) yarı sert bir İspanyol peyniri olan Hispanico peyniri üretmiştir. Üretimde bakteriosin üreten destek kültür olarak peynir sütüne farklı oranlarda (0-1 g/kg) *E. faecalis* INIA 4 kültürü ilave etmiştir. Destek kültür asidifikasyona etki etmemişken, starter laktokokların canlılığını, proteoliz seviyesini ve aroma bileşikleri konsantrasyonunu oldukça önemli seviyede etkilemiştir. 1 g/kg destek kültür kullanılarak üretilen 45 günlük peynirde toplam proteoliz ve toplam serbest amino asit seviyeleri kontrol peynirinden sırasıyla 1.8 ve 2.17 kat yüksek çıkmıştır. Yine aynı peynirde 3-metil-1-bütanal, diasetil ve asetoin konsantrasyonları artmış ve bu durum lezzeti olumlu etkilemiştir. Yine Garde et al. (1997) bakteriosin üreten *E. faecalis* INIA 4'ü (peynir sütüne % 0.003 ve % 0.10 seviyelerinde ilave ederek) destek kültür olarak yarı sert Hispanico peyniri üretiminde kullanmış ve destek kültürün peynir aroması oluşumu üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada %0.003 oranında destek kültür içeren süttten yapılan peynirde kontrol grubuna göre daha belirgin bir proteoliz ve daha hızlı lezzet gelişimi olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar düşük inokulasyon oranının peynirde olgunlaşmayı hızlandırmak için rahatlıkla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Probiyotik Olarak Enterokoklar

“Probiyotik” Yunanca'da “yaşam için” anlamına gelen ve uzun yıllardan beri çeşitli şekillerde kullanılan bir kelimedir (Gomes and Malcata, 1999). Bir probiyotik en basit şekilde “sağlık için yararlı canlı bir mikrobiyal gıda ingrediyesi” olarak tanımlanabilir (Diplock

et al., 1999; Gibson, 2002; Tuohy et al., 2003). McNaught and MacFie (2001) tarafından probiyotikler; “tüketici sağlığına bireylerin intestinal mikrobiyal dengesini koruyarak veya geliştirerek yararlı olan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır” şeklinde tanımlanmaktadır. Dünyada değişik yörelerde farklı fermente ürünlerin üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin insan sağlığı ve beslenmesi açısından oldukça önemli terapötik ve diyetetik özellikleri olduğu bilinmektedir. Probiyotik bakteriler kullanılarak yapılan süt ürünlerinin; antimikrobiyal aktivite, kolesterol düşürücü etki, laktoz intoleransı hafifletici etki, immün sistemin aktivasyonu, karaciğer rahatsızlıklarında olumlu etki, antikanserojenik etki, L (+) laktik asit üretimi gibi bir çok yararlı etkisinin olduğu çok sayıda literatürde bildirilmektedir (Salminen et al., 1992; Hirayama and Rafter, 2000; Saarela et al., 2000; Aiumutus, 2001). Probiyotiklerin bir çoğu patojen olmayan mikroorganizmalardır ve Laktobasiller, Bifidobakteriler ve Enterokoklar gibi insanların sindirim sisteminde doğal olarak bulunmaktadır (Gibson, 2002; Guslandi, 2003). Bazı probiyotik ürünler aktif bakteri türü olarak enterokokları içerebilmektedir. Örneğin ticari probiyotik bir ürün olan Causido® kültürü *Enterococcus faecium*'u aktif bakteri türü olarak içermektedir (Lund et al., 2002).

Bilindiği gibi probiyotikler belirli seviyelerde ve sürelerde yukarıda değinilen olumlu sağlık etkilerini meydana getirebilmektedirler. Dolayısıyla probiyotiklerinin etkili olabileceği tüketim seviyelerinin tanımlanması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmaların çoğunda probiyotik ürünler içerdikleri canlı bakteri sayısı baz alınarak sınıflandırılmışlardır. Ancak hala fizyolojik bir etkinin oluşabilmesi için gerekli probiyotik tüketim seviyesi hakkında çok fazla bilgi mevcut değildir (Sanders and Veld, 1999). Bu konuda çeşitli araştırmacılar tarafından 10^6 , 10^7 ve 10^8 cfu/g değerleri önerilmektedir (Ishibashi and Shimamura, 1993; Gobbetti et al., 1998; Stanton et al., 1998; Fonden et al. 2000; Godward et al., 2000). Genel olarak gıda endüstrisindeki *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobakteriler ve diğer probiyotik mikroorganizmaların uygulamaları için 10^6 cfu/g seviyesi önerilmektedir. Bifidobakteriler için önerilen günlük minimum tüketim dozu 10^8 - 10^9 canlı hücre, yada bir başka ifadeyle 10^6 - 10^7 canlı hücre/g bakteri içeren bir üründen en az 100 g tüketilmesidir (Boylston et al., 2004). Yine probiyotiklerin fonksiyonalitesi için ince bağırsakta günlük olarak en az 10^8 - 10^9 canlı bakteri bulunması gerektiği düşünülmektedir. Bu bilginin doğruluğu durumunda gerçek toplam günlük doz 10^9 - 10^{10} canlı probiyotik bakteri olmalıdır. Ancak yapılan bir model çalışmada,

gastrointestinal sistemde toplam probiyotik bakteriden %10-40'nin canlılığını sürdürdüğü dikkate alınrsa (Sanders and Veld, 1999), toplam tüketim dozu, gastrointestinal sistemdeki canlılık seviyesi, dışkıdaki canlı probiyotik sayısı gibi faktörlerin çok yönlü olarak ayrı ayrı irdelenmesi gerekmektedir.

Laktik Asit Bakterileri Endüstriyel Platformu Uluslararası Toplantısı'nda sadece probiyotik özellikleri gösterilmiş olan bakteri suşlarının gıda katkısı olarak kullanımları önerilmiştir (Guarner and Schaafsma, 1998; Gardiner et al., 1999a). Yine FAO/WHO tarafından insan tüketimi için kullanılacak probiyotik mikroorganizmaların sağlığa yararlı etkilerinin gösterilmesi ve bunların GRAS (genel olarak güvenli bilinen) statüsünde olması gerektiği bildirilmektedir (FAO/WHO, 2001). Ancak enterokoklar hala bir çok kaynak tarafından GRAS statüsünde kabul edilmemektedir (Ross et al., 2002). Avrupa Birliği Çerçeve Programı kapsamında yürütülen "Gıda Fermantasyonlarında Enterokoklar: Fonksiyonalite ve Güvenlik Hususları" konulu bir araştırmada (FAIR-CT97-3078) yaklaşık 400 enterokok'tan oluşan bir koleksiyon oluşturulmuş ve biyokimyasal karakterizasyon yapılarak suş seviyesinde tanımlama gerçekleştirilmiştir. Söz konusu çalışmada gıda, insan ve hayvan kaynaklı izolatların çoğunlukla *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerini içerdiği görülmüştür. Araştırmacılar ilgili çalışmanın başlıca sonucunun güvenlik ve fonksiyonalite ile ilgili özelliklerin suşa spesifik olduğu ve bu açıdan gıda ya da probiyotik preparasyonların hazırlanmasında kullanılacak enterokokların suş bazında dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Vancanneyt et al., 2002).

Probiyotik bakteriler bir çok peynir çeşidinin üretiminde başarıyla kullanılmaktadırlar. Peynirlere probiyotik bakterilerin ilavesindeki başarı; kullanılan tür ve suş, üretimde kullanılan laktik asit bakterilerinin aktivitesi, peynir kompozisyonu, üretim ve olgunlaşma koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Enterokokların çevre koşullarına oldukça dirençli olmaları ve insan bağırsak florasında doğal olarak bulunmaları onların probiyotik ürünlerin üretiminde kullanımlarını destekleyici unsurlardır. Ayrıca enterokoklar bir çok gıdada gıda güvenliğinin geliştirilmesi için teklif edilen mikrobiyal katkılardandır. Antibakteriyel proteinler (bakteriosinler) üreten enterokok suşları peyniri de içeren bir çok gıda grubuna ilave edildiğinde bu gıdalarda *Listeria monocytogenes* gibi gıda patojenlerinin gelişimini etkili bir şekilde engelleyebilmektedir.

Genellikle enterokok'lardan *E. faecium* suşları gıda uygulamalarında probiyotik amaçlı olarak en sık kullanılan türdür (Vael and Goossens, 2002). *E. faecium* suşlarının yüksek seviyede bakteriosin üretmesi ve insanlarda enterokoklarla ilgili olan enfeksiyonların %80'ininde *E. faecalis* suşlarının tanımlanması bunun önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Enterokoklardan *E. faecium* SF68 suşunun düşük pH'ya dayanıklı, safra asitlerine duyarız ve dış etkileri oldukça yüksek seviyede tolere edebildiği bildirilmektedir (Franz et al., 1999). Yapılan çalışmalarda *E. faecium* SF68 suşunun çocuklarda diyarenin önlenmesi ve antibiyotik kullanımına bağlı diyarenin tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılan araştırmalarda oldukça olumlu sonuçlar verdiği de bilinmektedir (Franz et al., 1999; 2003). Yine *E. faecium* PR88 suşunun insanlarda kolitis semptomlarını azalttığı ve probiyotik olarak faydalanılabildiği belirtilmektedir (Gardiner et al., 1999a). *E. faecium* K77 Danimarka'da ticari olarak bulunabilen ve starter kültür olarak kullanım için önerilen bir probiyotiktir (Graffa et al., 1997; Ross et al., 2002).

Peynirlerin geleneksel mikroflorasında bulunan enterokokların da çeşitli probiyotik etkileri görülebilmektedir. Saavedra et al. (2003) ev yapımı bir Arjantin peyniri olan Tafi peynirinden 122 adet *E. faecium* suşunu izole etmiştir. Söz konusu 122 suştan 9 suşun kolesterol düşürücü özelliği olduğu, 6 suşun bakteriosin üretme kabiliyetinde olduğu (bunlardan 2 suşun anti-Listeria özelliği olduğu) ve probiyotik olarak uygulamada kullanılabilecek bu suşların virülans özelliği olmadığı belirlenmiştir.

Probiyotik etkili enterokokların peynir üretiminde kullanımı gerek insan sağlığı gerekse ürün kalitesinin artırılması açısından son yıllardaki popüler yaklaşımlardan biridir. Gardiner et al. (1999a), Cheddar peynirinde probiyotik *E. faecium*'un (PR88 suşu) gelişme karakteristiklerini çalışmışlardır. Çalışmada peynir sütüne 2×10^7 cfu/g starter ilave edildiğinde, ilave edilen mikroorganizmaların 9 ay olgunlaştırma süresince 3×10^8 cfu/g seviyelerinde canlılıklarını sürdürdükleri tespit edilmiştir. Çalışmada, olgunlaşma periyodu boyunca kontrol peynir ile PR88 suşu ilave edilen peynir karşılaştırıldığında PR88 suşunun ilave edildiği peynirde proteolizin arttığı ve yüksek seviyelerde koku-aktif uçucu bileşiklerin meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca, PR88 suşunun ilavesi peynir kompozisyonuna ve peynirin duyuşal özellikleri üzerine etki etmemiştir. Tekrar edilen ticari denemelerde, araştırmacılarca probiyotik mikroorganizma ilave edilen peynirin aromasının daha iyi

olduğu bildirilmiştir. Gardiner et al. (1999b) yaptıkları başka bir çalışmada gastrointestinal sisteme probiyotik bir bakteri olan *Enterococcus faecium*'un Fargo 688® suşunun taşınmasında Cheddar peynirinin uygun bir taşıyıcı olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Araştırmada peynir sütüne 2×10^{10} cfu/g *Enterococcus faecium* içeren kültürden %0.01 (ağırlık/hacim) oranında, ve *Enterococcus faecium*'un Fargo 688® Rif^r kültüründen (hayvan besleme çalışmasında sonradan yapılacak selektif sayım için kullanılmıştır) % 2 oranında ilave edilmiştir. Fargo 688® suşunun Cheddar peynirinde 8°C'de yapılan 15 aylık depolamadan sonra 4×10^8 seviyesinde canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Çalışmanın bir parçası olarak yürütülen besleme denemesinde 8 domuz 21 gün boyunca Cheddar peyniri ile 1.3×10^{10} cfu/gün probiyotik bakteri almışlardır. Besleme periyodu süresince domuzların dışkılarındaki ortalama fekal probiyotik sayısının 2×10^6 cfu/g dışkı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen bu veriler gastrointestinal sisteme canlı probiyotik bakterilerin taşınmasında Cheddar peynirinin oldukça uygun bir araç olduğunu göstermiştir. Yine çalışmada kullanılan enterokokların peynirlerin kalite kriterleri üzerinde (aroma, lezzet ve tekstür) olumsuz bir etkisi gözlenmemiş ve enterokok suşlarının ilavesinin Cheddar peyniri aromasını geliştirdiği belirlenmiştir. Söz konusu probiyotik peynirin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek seviyelerde koku-aktif uçucu bileşik içerdiği GC/MS yöntemiyle tespit edilmiş, yine HPLC ile yapılan analizde de serbest aminoasit seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Araştırmacılarca enterokokların ilavesinin Cheddar peyniri aromasını geliştirmesi ve son ürünün probiyotik özellik göstermesi nedeniyle hem sağlık açısından hem de ekonomik açıdan daha avantajlı olduğu belirtilmiştir (Gardiner et al., 1999b; Stanton and Ross, 2000).

Sonuç

Özellikle son 5 yıllık periyotta fonksiyonel gıdalara olan tüketici ilgisi ve buna bağlı araştırma ilgisinin artması, probiyotik özelliklere sahip olan enterokok suşlarının gıdalara ilavesi fikrini oldukça popüler hale getirmiş ve konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu sayede probiyotik içeren peynirlerin başarılı bir şekilde gelişimi hem süt ürünleri üreten firmalar arasında rekabetin oluşmasına hem de daha besleyici ve fizyolojik kalitesi yüksek süt ürünlerinin miktarlarının artmasına olanak sağlayacaktır. Genel olarak dünyanın çeşitli bölgelerinde, değişik tip

peynirlerin günde en az bir defa tüketildiği kabul edilirse ki çoğunlukla böyledir, yüksek tüketim değerleri nedeniyle peynirlerin probiyotiklerin taşıyıcısı olarak kullanılması oldukça önemli ve etkin bir yaklaşım olarak görülmektedir. Eğer probiyotik peynirler geleneksel peynir yapım teknolojisinde hiçbir değişikliğe gidilmeden yada çok az bir değişim ile üretilebilirlerse, bu durum üreticiler açısından probiyotik peynirlerin ticari olarak üretimini cazip hale getirecektir.

Özet

Enterokoklar bazı Avrupa ülkelerinde probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotik olarak en çok kullanılan tür *Enterococcus faecium* iken bazı preparasyonlar *Enterococcus faecalis* de içerebilmektedir. Ayrıca enterokokların biyolojik koruyucu kültür ve olgunlaşmayı hızlandırıcı ajan olarak kullanım potansiyelleri de bulunmaktadır. Bu makalede enterokokların koruyucu kültür ve probiyotik olarak kullanımları yeni bulguların ışığında değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Enterokok, olgunlaşma, peynir, doğal koruyucu kültür

Kaynaklar

- Aimutis, W.R., 2001. Challenges in developing effective probiotic functional foods, including scientific and regulatory considerations. Bulletin of the IDF 363: 30-38.
- Bayazit, A.A., Yılsay, T.Ö., 2000. Süt ve ürünlerinde bulunan laktik asit bakterilerinin oluşturduğu bakteriosinler. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu: Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri Bildiriler Kitabı, Sayfa: 315-319, Rebel Yayıncılık, İstanbul.
- Boylston, T.R., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B., Reinheimer, J.A., 2004. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards, Int Dairy J 14(5): 375-387.
- Diplock, A.T., Aggett, P.J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E.B., Roberfroid, M., 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. Br. J. Nutr. 81: 1-27.
- FAO/WHO, 2001. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk with lactic acid bacteria. Report from FAO/WHO expert consultation. 1-4 Oct., 2001, Cordoba, Argentina.
- Fonden, R., Mogensen, G., Tanaka, R., Salminen, S., 2000. Effect of culture-containing dairy products on intestinal microflora, human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. Bulletin of the IDF 352: 5-23.
- Franz, C.M.A.P., Holzappel, W.H., Stiles, M.E., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety. Int. J. Food Microbiology, 47: 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzappel, W.H., 2003. Enterococci in foods-a conundrum for food safety. Int. J. Food Microbiol. 88: 105-122.
- Garde, S., Gaya, P., Medina, M., Nunez, M., 1997. Acceleration of flavour formation in cheese by a bacteriocin-producing adjunct lactic culture. Biotechnology Letters 19(10): 1011-1014.

- Gardiner, G.E., Ross, R.P., Wallace, J.M., Scanlan, F.P., Jagers, P.P.J.M., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K., Stanton, C., 1999a. Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of Cheddar cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 4907-4916.
- Gardiner, G.E., Stanton, C., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G., Ross, R.P., 1999b. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. *J. Dairy Science* 82: 1379-1387.
- Gibson, G., 2002. Probiotics: a growth industry. *Dairy Ind Int*, January 18-20.
- Giraffa, G., 1995. Enterococcal bacteriocins: their potential use as anti-Listeria factors in dairy technology. *Food Mikrobiol.* 12: 551-556.
- Giraffa, G., Carminati, D., Neviani, E., 1997. Enterococci isolated dairy products: a review of risks and potential technological use. *J. Food Prot.* 6: 732-738.
- Giraffa, G., 2003. Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 215-222.
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., De Angelis, M., 1998. Production of Crescenza cheese by incorporation of Bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*, 81: 37-47.
- 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.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., 1999. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technol.* 10: 139-157.
- Guarner, F., Schaafsma, G.J., 1998. Probiotics, *Int J Food Microbiol* 39: 237-238.
- Guslandi, M., 2003. Probiotics for chronic intestinal disorders, *Am J Gastroentol* 98(3): 520-521.
- Hirayama, K., Rafter, J., 2000. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes and Infections*, 2(6): 681-686.
- Ishibashi, N., Shimamura, S., 1993. Bifidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technolohy* 46: 126-135.
- Kavas, G., Kımık, Ö., 2003. Hayvan beslenmesi ve gıda güvenliği açısından enterokoklar. *Türk Tarım* 152: 30-37.
- Lund, B., Adamson, I., Edlund, C., 2002. Gastrointestinal transit survival of an *Enterococcus faecium* probiotic strain administered with or without vancomycin. *Int. J. Food Microbiol.* 77: 109-115.
- McNaught, C.E., MacFie, J., 2001. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. *Nutrition Research* 21: 343-353.
- Oumer, A., Gaya, P., Fernandez-Garsia, E., Mariaca, R., Gadre, S., Medina, M., Nunez, M., 2001. Proteolysis and formation of volatile compounds in cheese manufactured with a bacteriocin-producing adjunct culture. *J. Dairy Research* 68: 117-1219.
- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins, K., Stanton, C., 2002. Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 57: 71-78.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mattö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84: 197-215.
- Saavedra, L., Taranto, M.P., Sesma, F., Valdez, G.F., 2003. Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 241-245.

- Salminen, S., Deighton, M., Gorbach, S., 1992. Lactic acid bacteria in health and disease. In "Lactic Acid Bacteria", Edited by S. Salminen and A. von Wright, Marcel Dekker Inc. 270 Madison Avenue, New York, 10016, USA, 442p.
- Sanders, M.E., in't Veld, J.H., 1999. Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76: 293-315.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2002. Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 76: 93-105.
- Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G., Ross, R.P., 1998. Probiotic cheese. *Int. Dairy Journal*, 8: 491-496.
- Stanton, C., Ross, R.P., 2000. New Probiotic Cheddar Cheese. End of Project Report. ISBN: 1 84170 122 X, ARMIS No. 4266, DPRC No. 29. Irish Agriculture and Food Development Authority, Dairy Products Research Centre Teagasc, Moorepark, Fermoy, Co., Cork, Ireland (or via <http://www.teagasc.ie/research/reports/dairyproductio/4266/eopr-4266.pdf>).
- Tuohy, K.M., Probert, H.M., Smejkal, C.W., Gibson, G.R., 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today* 8(15): 692-700.
- Vael, C., Goossens, H., 2002. Enterococci as probiotics: Chances and challenges. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Vancanneyt, M., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., Holzappel, W., Dellaglio, F., Cogan, T., De Vuyst, L., Lombardi, A., Kerster, K., Swings, J., 2002. Genotypic characterization of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains and correlation with their origin and functional and safety properties. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.