



Alternative Process Technologies in Reducing Stress Factors of Probiotic Bacteria

Deniz Aksöz^{1,a}, Tülay Özcan^{1,b,*}

¹Bursa Uludağ University, Department of Food Engineering, Bursa, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 08-12-2022 Accepted : 06-04-2023</p> <p>Keywords: Probiotic Prebiotic Postbiotic Food Safety Innovative food</p>	<p>Probiotic microorganisms are heavily influenced by product matrix and food processing processes, along with factors such as temperature, pH, oxygen, water activity. Alternative technologies to heat treatment have become increasingly important in recent years to design innovative food products with increased probiotic viability, prebiotic stability and higher concentration of bioactive compounds. The application of these developing alternative technologies to probiotic products increases the viability of probiotic bacteria and improves biological effects such as binding of cholesterol with probiotic fermentation, adhesion to Caco-2 cells, increasing angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor, antioxidant, antimicrobial activity and lowering systolic blood pressure. In addition, these technologies optimize fermentation kinetics, and bacterial activity results in the production, fermentation and preservation of bioactive compounds such as bacteriocin, oligosaccharide, peptide, phenolic compound, flavonoids (vitamin and mineral bioavailability), and improving sensory properties. These technologies can also be applied to post-biotics, which have grown in recent years in order to achieve increased health effects. These studies demonstrate that alternative processing technologies increase the therapeutic effect of probiotics, prebiotics, and postbiotics in foods. This compilation examines the effect of thermal processing alternative technologies on probiotic fermentation.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(5): 905-919, 2023

Probiyotik Bakterilerin Stress Koşullarının Azaltılmasında Alternatif Proses Teknolojileri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makalesi</i></p> <p>Geliş : 08-12-2022 Kabul : 06-04-2023</p> <p>Anahtar Kelimeler: Probiyotik Prebiyotik Postbiyotik Gıda Güvenliği Yenilikçi Gıda</p>	<p>Probiyotik mikroorganizmalar sıcaklık, pH, oksijen ve su aktivitesi gibi faktörler ile birlikte ürün matrisi ve gıda işlem proseslerinden büyük ölçüde etkilenmektedir. Isıl işleme alternatif teknolojiler, artan probiyotik canlılığı, prebiyotik stabilite ve daha yüksek biyoaktif bileşik konsantrasyonuna sahip yenilikçi gıda ürünlerini tasarlamak için son yıllarda giderek önem kazanmaktadır. Gelişen bu alternatif teknolojilerin probiyotik ürünlere uygulanması, bakteri canlılığını arttırmakla birlikte, probiyotik fermantasyonu ile kolesterolün bağlanması, Caco-2 hücrelerine yapışma, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörünü artırma, antioksidan, antimikrobiyal aktivite ve sistolik kan basıncını düşürme gibi biyolojik etkileri iyileştirmektedir. Ayrıca, bu teknolojiler ile fermantasyon kinetikleri optimize edilmekte, bakteri faaliyetleri sonucunda bakteriosin, oligosakkarit, peptit, fenolik bileşik, flavonoidler gibi bileşikler üretilmekte, fermente edilmekte, korunmakta, biyoaktif (vitamin ve mineral biyoyararlılığı) ve duyuşal özellikler iyileştirilmektedir. Son yıllarda artan sağlık etkilerine sahip postbiyotikler elde etmek için de gelişen bu teknolojiler uygulanmaktadır. Çalışmalar, alternatif işleme teknolojilerinin gıdalardaki probiyotik, prebiyotik ve postbiyotiklerin terapötik etkisini artırdığını göstermektedir. Bu derlemede, ısıl işleme alternatif teknolojilerin probiyotik fermantasyonu üzerindeki etkisi incelenmektedir.</p>

denizaksoz20@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-0223-3807>

tulayozcan@uludag.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0001-9484-667X>



Giriş

Fonksiyonel gıdalar, içerdiği besin öğelerinin ve temel beslenmenin yanı sıra insan vücuduna bir veya birden fazla fizyolojik yarar sağlayan ve hastalık riskinin azaltılması ile birlikte fiziksel ve zihinsel sağlık etkisi oluşturan gıdalar olarak bilinmektedir (Granato ve ark., 2020). Son yıllarda, kronik hastalıklar ile yapılan birçok çalışmada gıdaların fonksiyonel hale getirilmesinde sağlık etkilerinin belirlendiği temel bileşenlerden bazılarının probiyotik ve prebiyotikler olduğu görülmektedir (Pandey ve ark., 2015; Longoria-García ve ark., 2018; Vallianou ve ark., 2020; Narlı ve Özcan, 2022).

“Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında vücuda sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır” (Hill ve ark., 2014; Slizewska ve Chlebicz-Wójcik, 2020). Prebiyotikler ise, esas olarak konakçı mikroorganizmalar tarafından fermente edilen ve sağlık yararı sağlayan substratlardır (Gibson ve ark., 2017). Bu şekilde, her iki fonksiyonel bileşeni içeren gıda ürünleri, tek başına probiyotik veya prebiyotik kullanımına göre avantajlı olmakla birlikte, esas olarak bağırsak aktivitesine gelişmiş faydalar sağlayan sinbiyotik ürünler olarak adlandırılmaktadır (Balthazar ve ark., 2017). Sinbiyotik bileşenleri içeren gıda ürünleri son yıllarda giderek artan oranda tüketicilerin talep ettiği şekilde market raflarında daha fazla yer almaktadır (González-Herrera ve ark., 2021; Akarca ve ark., 2022). Paraprobiyotik ve postbiyotik bileşenlerin organizmaya alınması ise, probiyotiklerin sağlık yararlarını sağlamanın başka bir yolu olarak kabul edilmektedir (Barros ve ark., 2021a; Almada ve ark., 2021a; Parvarei ve ark., 2021). Paraprobiyotikler inaktive edilmemiş veya canlı olmayan mikrobiyal hücreler iken, postbiyotikler canlı bakteriler tarafından salgılanan veya bakteriyal lizisten sonra salınan bileşenler veya metabolik yan ürünlerdir. Postbiyotikler, ek biyoaktivite (anti-karsinogenik, anti-inflamatuar, anti-oksidatif özellikler, fitokimyasallar vb.) sağlamak ve yaşam kalitesini düşüren birçok hastalığın riskini azaltarak konağa fizyolojik faydalar sunmaktadır (Peng ve ark., 2020; Özcan ve Eroglu, 2022).

In-vivo testler, probiyotik, prebiyotik ve postbiyotik ürünler için gözlemlenen *in-vitro* faydaların hayvanlar veya insanlar gibi bir konakçı organizmada doğrulanmasını sağlamaktadır (Granato ve ark., 2020). Gıdalardaki yeterli probiyotik konsantrasyonun en az 6-7 log CFU/g ve sağlık yararlarını artırmak için günlük alım miktarı ise yaklaşık 8-9 log CFU/g olarak bildirilmiştir. Bu konsantrasyonlar, sindirim yolundaki olası kayıpları telafi etmek için yüksektir, ayrıca gıda ürününe eklenen prebiyotikler ve mevcut potansiyel prebiyotik kaynaklarının korunması ile, gastrointestinal sindirim yoluyla probiyotik kayıpları azaltılabilmektedir (Balthazar ve ark., 2019).

Fonksiyonel gıdaların sağlık faydalarına rağmen, bu ürünler duyuşal özellik ve proses kayıpları açısından büyük bir zorluğa da sahip bulunmaktadır. Gıdalara geleneksel olarak uygulanan ısı işlem parametreleri duyuşal özellikleri değiştirebilmekte ve gıda bileşimindeki biyoaktif bileşiklerinin içeriğini de azaltabilmektedir (Augusto, 2020). Bu nedenle, gıda tüketimindeki trendleri karşılamak, sağlık ve tüketici memnuniyeti birleştirmek gibi zorlukların üstesinden gelmek için bazı gıda işleme

teknolojileri üzerinde çalışılmaktadır (Guimarães ve ark., 2018a; 2018b; 2019a; 2019b).

Gelişen alternatif teknolojiler, sanayide inovasyonun bir sonucu olarak ticari ve çevresel anlamda sürdürülebilirlik sağlayan ve geleneksel işleme yöntemlerini değiştiren yeni teknolojilerdir. Bu yöntemler, besin kayıplarını önlemeyi, işleme ve depolama sırasında biyoaktif bileşikleri korumayı ve gıda güvenliğini sağlamayı amaçlayan, gıdalar üzerinde termal olmayan veya optimize edilmiş ısı işlemleri kullanan gıda işleme teknikleridir (Misra ve ark., 2017; Priyadarshini ve ark., 2019). Gıda ürünlerinin işlenmesi için en çok çalışılan yeni uygulamalar, yüksek yoğunluklu ultrason (Guimarães ve ark., 2019a; 2019b), yüksek basınç (Khouryieh, 2021), darbeli elektrik alanı (McAuley ve ark., 2016), darbeli ışık teknolojisi (Abida ve ark., 2014), süperkritik karbondioksit teknolojisi (Silva ve ark., 2019a), soğuk plazma teknolojisi (Coutinho ve ark., 2018), ohmik ısıtma (Cappato ve ark., 2017) ve mikrodalga işleme teknolojileridir (Martins ve ark., 2019).

Bazı çalışmalar, gıda işleme için gelişen teknolojilerin, gelişmiş fonksiyonel aktivitelere sahip probiyotik gıda ürünlerinin üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Guimarães ve ark., 2018a, 2018b; Akarca ve ark., 2022). Bu sonuçları gösteren araştırmalar, ultrason, yüksek basınç, darbeli elektrik alanı, darbeli ışık, soğuk plazma, ohmik ısıtma ve süper kritik karbondioksit teknolojileri ile başarılıdır. Bu nedenle, bu araştırma, probiyotik bakteri suşlarına ve probiyotik, prebiyotik ve postbiyotik gıda ürünlerine uygulanan gelişen teknolojiler hakkında güncel bilgileri açıklamaktadır (Lye ve ark., 2011; Lye ve ark., 2012; Tabanelli ve ark., 2013; Jeong ve ark., 2018, Silva ve ark., 2019b; Ribeiro ve ark., 2021; Silva ve ark., 2021).

Isıl İşleme Alternatif Teknolojiler

Beslenme ile ilgili çalışmalar fonksiyonel bileşenlerin varlığının yanı sıra, düşük ya da azaltılmış kalorili, minimum işlenmiş, daha sağlıklı ve çevre dostu ürünlerin geliştirilmesi konusunda yoğunlaşmaktadır. Bu anlamda, tüketiciler sürdürülebilir, güvenilir ve aynı zamanda kalp-damar rahatsızlıkları, obezite, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıklara yakalanma risklerini azaltacak gıdaları daha çok talep etmektedirler (Nowosad ve ark., 2021; McClements ve Grossmann, 2021).

Ayrıca gelişmekte olan bu teknolojiler, geleneksel koruma yöntemlerinden daha düşük enerji ve işleme sürecinde daha az su gereksinimi ile daha çevre dostu ve sürdürülebilir olmak gibi kritik avantajlar sunmaktadır (Knorr ve ark., 2011; Barba ve ark., 2017). Ortaya çıkan bu teknolojiler, gıda işlemede 55°C eşiği ile termal ve termal olmayan şekilde sınıflandırılabilir (Guimarães ve ark., 2018a).

Ultrason Teknolojisi

Ultrason dalgaları, insan işitme eşiğinin (>16-20 kHz) üzerindeki ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır. Ultrason, frekans aralıklarındaki bu farklılığa dayalı, düşük ve yüksek yoğunluklu ultrason (HIUS) olarak iki farklı yaklaşıma ayrılabilir. Düşük yoğunluklu ultrason,

100 kHz'den yüksek frekanslar ve 1 W/cm²'nin altındaki yoğunluklarla karakterize edilmektedir (Soltani Firouz ve ark., 2019). Buna karşılık, HIUS, 20-500 kHz arasındaki frekanslar ve 1 W/cm²'den yüksek yoğunluklarla tanımlanmaktadır (Guimarães ve ark., 2019b). Ultrasonikasyon, sırasıyla 20 kHz-100 kHz, 100 kHz-1 MHz ve 1 MHz-100 MHz frekans aralıklarıyla düşük frekanslı, orta frekanslı ve yüksek frekanslı ultrasonikasyon olarak sınıflandırılan farklı frekanslarla kullanılmaktadır (Mason ve ark., 2015).

Düşük yaklaşım yoğunluklarında ve genliklerinde ses dalgalarının yayılması, yankılanımı akışı tetiklemektedir. Buna karşılık, yüksek yoğunluklar ve genlikler, sıvının buhar basıncının altında yerel basınçlara neden olarak, ortamdaki gaz kabarcıklarının sürekli büyümesine yol açmaktadır. Sıvı kabarcıkları, artık yeterli enerjiyi ememedikleri zaman salınım yapmakta ve boyut olarak genişlemekte, bu da mekanik, kimyasal ve termal etkilere neden olmaktadır. Kavitasyon olarak bilinen bu olay kabarcıkların çökmesine neden olmaktadır. HIUS'un gıda işlemedeki etkisinin çoğundan kavitasyon ve ilişkili etkileşimler sorumlu bulunmaktadır (Knorr ve ark., 2011; Joshi ve ark., 2019).

HIUS, gıdada doğrudan ürüne (ultrason probu ile) uygulanabilmektedir; bu, enerjinin dönüştürücüden (ultrasonik dalgaların oluşumu) örneğe doğrudan dağıtılmasıyla karakterize edilmektedir. Bu sistem, sinyalin yükseltilmesinden ve örneğe gönderilmesinden sorumlu dönüştürücüde bir boruya sahip bulunmaktadır. HIUS, akustik enerjinin dönüştürücüden örneğe dolaylı olarak bir bağlantı sıvısı (genellikle su) kullanılarak dağıtılmasıyla ürüne (ultrason banyosu) uygulanabilmektedir (Guimarães ve ark., 2019b).

HIUS, gıdadaki bileşiklerin yapısını değiştirmekte, partikülleri parçalamakta, kütle transferini hızlandırmakta veya hücre duvarı ve sitoplazmik membrana zarar vererek, yüzey sürtünmesi ile hücrelerin kırılmasına ve bileşenlerin sızmasına neden olabilmektedir. Düşük sonoporasyon seviyelerinde (geçici gözenekler veya boşluklar), HIUS mikrobiyal gelişmeyi iyileştirebilmektedir, çünkü artan hücre zarı geçirgenliği daha yüksek bir substrat transferine, hücresel yan ürünlerin verimli bir şekilde çıkarılmasına izin vermekte ve mikroorganizmalara besin ve oksijen tedarikini hızlandırmaktadır. Bununla birlikte, daha yüksek sonoporasyon seviyeleri, çift kat hücre zarı lipid tabakasının değişmesi veya bozulması bunun sonucunda da hücre ölümü nedeniyle hücresel materyalin sızmasına neden olmaktadır (Guimarães ve ark., 2019a; 2019b). Bu şekilde, HIUS'tan önce probiyotik bakteriler eklendiğinde, hücre ölümü olmadan, istenen hücre geçirgenliği seviyelerini elde etmek için işlem parametreleri optimize edilmelidir.

Yüksek Basıncılı İşleme

Yüksek hidrostatik basınç (HPP) teknolojisinde, işlenecek ürüne basınç uygulamak için su ortamından yararlanılmaktadır. HPP, patojenik Gram-negatif bakteri ve Gram-pozitif bakterileri ile maya ve küf sayısında önemli bir logaritmik azalma sağlamakta ve gıdaların daha uzun süre korunmasına yardımcı olmaktadır. Mikrobiyal yükteki bu azalma ise, uygulama sırasındaki basınç, sıcaklık ve işlenen gıdanın türüne bağlı olmaktadır (Van Loey ve ark., 2003; Jadhav ve ark., 2021). Bu teknoloji ilk

olarak Japonya'da uygulanmış ve 1990'da ilk ticari HPP ile işlenmiş ürün geliştirildikten sonra gıda endüstrisi tarafından giderek daha fazla kullanılıyor hale gelmiştir (Priyadarshini ve ark., 2019).

HPP uygulamasında, ürüne çok yüksek basıncı iletmek için ortam olarak su kullanılmaktadır, bu da mayalar, küfler, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler gibi belirli enzimlerin ve mikroorganizmaların inaktivasyonuna yol açmaktadır (Barba ve ark., 2017; Mandal ve Kant, 2017; Zhang ve ark., 2019). Ayrıca, HPP, protein denatürasyonu ile raf ömrünün uzamasına neden olmakta, pek çok katı ve sıvı gıda ürünü için uygulanabilir bir özellik göstermektedir (Priyadarshini ve ark., 2019). Bununla birlikte, HPP'nin mikrobiyal inaktivasyonunun etkinliği, gıda matriksine, mikroorganizmanın direncine, basınca, sıcaklığa ve HPP işleminin bekleme süresine bağlı bulunmaktadır. HPP ekipmanı ısı değişimi, basınç oluşturma ve tutma basıncı, sıcaklık ölçümü, arıtma odası ve proses kontrol sistemi gibi sistemleri gerektirmektedir (Zhang ve ark., 2019).

Genellikle gıdalar için kullanılan HPP, 5 dakikadan daha kısa devir süreleri için oda sıcaklığında 200-600 MPa'da gerçekleştirilmektedir (Aganovic ve ark., 2021). Kimyasal özellikler açısından, özellikle moleküllerin kovalent bağları bozulmadan kalırken, proteinlerin, nükleik asitlerin ve polisakaritlerin ikincil, üçüncül veya dördüncül yapısı etkilenebilmektedir. Renk, tat ve besinlerden sorumlu küçük organik moleküller, HPP'den pek etkilenmeyen ve baskın özellikte kovalent bağa sahiptirler. Bu nedenle, HPP kalite parametrelerinin korunmasını kolaylaştırmaktadır (Mandal ve Kant, 2017). HPP, probiyotik hücreler veya probiyotik ürünler üzerinde 50 MPa'lık ölümcül olmayan bir basınç homojenizasyonunda kullanılabilir. Bu belirli bakteri gruplarının canlılığı ve gelişimi, gastrointestinal bariyerlere direnci artırmak, hücre zarı hidrofobikliğini ve otoagregasyonunu (Tabanelli, 2013; Burns ve ark., 2015) geliştirmek için mükemmel bir şekilde etkili olmaktadır.

Darbeli Elektrik Alanı

Darbeli elektrik alanı (PEF), kısa bir süre (mikromilisaneye) için yüksek elektrik alanlarının kısa darbelerini kullanan termal olmayan teknolojilerden birisidir. Genellikle, gıdanın işlenmesi için elektrik alan yoğunluğu 25-85 kV/cm arasındadır ve maruz kalma süresi birkaç milisaneye veya nanosaniyedir. Gıda çok kısa süre darbeli elektrik alana maruz kaldığından çok yüksek sıcaklığa maruz kalma söz konusu değildir ve böylece yüksek sıcaklıktan dolayı gıdada istenmeyen değişiklikler ortaya çıkmamaktadır. PEF, bir oda içindeki elektrotlar arasına yerleştirilen ürünün tamamından geçirilmektedir (Knorr ve ark., 2011; Vorobiev ve ark., 2019).

PEF teknolojisi hücrelerde ölümcül hasara neden olabilmekte veya hücre zarlarının seçici geçirgenliği ve reaktif türlerin hücresel bölmeler arasında elektroforetik hareketi ile ölümcül olmayan stresi indükleyebilmektedir. Örneğin, gıdalardaki mikroorganizmaları inaktive etmek için geri dönüşümlü olmayan elektroporasyon koşulları (orta veya çok yüksek alan gücü) kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2019). PEF işlemi sırasında mikrobiyal inaktivasyonu etkileyen faktörler ve uygulama, (1) ekipmanın elektrik alan gücü, (2) darbe genişliği ve şekli, (3) sıcaklık ve uygulama süresi, (4) tür, boyut,

konsantrasyon ve gelişme aşaması gibi mikrobiyal faktörler ve (5) pH, antimikrobiyaller, iyonik bileşikler, elektriksel iletkenlik ve iyonik güç gibi dış faktörlere bağlı bulunmaktadır (Knorr ve ark., 2011; Barba ve ark., 2017).

Gıda, yüksek yoğunluklu darbelerle (μs başına 15-40 kV/cm) PEF'e tabi tutulduğunda, dirençli ısıtma, elektroliz ve hücre zarlarının bozulması gibi çeşitli olaylar meydana gelmekte ve bu da mikroorganizma inaktivasyonuna sebep olmaktadır. PEF'in hücre zarı üzerinde neden olduğu hasara elektroporasyon denilmektedir. Bu durumda hücrenin yoğunluğuna ve davranış koşullarına bağlı olarak kalıcı veya geçici zar geçirgenliği olabilen gözenekler oluşturarak işleyişi etkilemekte ve hücre ölümüne yol açmaktadır. PEF'in elektroporasyon mekanizması, sıvı veya yarı katı gıda ürünleri için çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. Örneğin, meyve suları, süt ve diğer gıda matrikslerini işlemek ve korumak için başarıyla uygulanmaktadır. Ayrıca bu teknoloji gıda ürünlerinde biyoaktif bileşiklerin korunmasını artırmak gibi biyoişlemede de kullanılabilir. Bununla birlikte, PEF işleme, hava kabarcığı olmayan ve çok düşük elektrik iletkenliği olan katı gıda ürünleri için uygun değildir. Hafif parametreler için prosesdeki değişiklikler, PEF işlemeden önce eklenen probiyotik kültürün canlı tutulmasına izin verebilmekte ve tersinir membran geçirgenliği ile bir gıda ürünüde biyoaktif bileşiklerin artmasına neden olabilmektedir (Barba ve ark., 2015; Priyadarshini ve ark., 2019). PEF teknolojisi uygun maliyetlidir, enerji açısından verimlidir ve çeşitli meyve suları için başarıyla kullanıldığı gibi üretim hatlarına kolayca uygulanabilmektedir. Ancak, büyük ölçekli endüstriyel operasyonları iyileştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (Priyadarshini ve ark., 2019).

Darbeli Işık

Darbeli ışık teknolojisi prensibi, kızılötesi (700-1000 nm), görünür ışık (400-700 nm) ve ultraviyole (100-400 nm) dahil olmak üzere farklı dalga boylarında olabilen yüksek güçlü elektromanyetik radyasyon darbelerinin uygulanmasına dayanmaktadır (Gómez-López ve ark., 2012; Mahendran ve ark., 2019). Bu ışık spektrumu (100-1000 nm), düşük frekansları ve yüksek dalga boyları nedeniyle genellikle yetersiz penetrasyon kapasitesine sahip bulunmaktadır. Bununla birlikte, mikrobiyal inaktivasyon için en çok kullanılan bu ışık türleri arasında ultraviyole (UV) spektrumu en yüksek penetrasyon oranlarına sahiptir. Bu nedenle, malzemelere nüfuz etmek için biraz daha yüksek UV ışık kapasitesine rağmen, darbeli ışık teknolojisinin gıda ve ambalaj malzemesinin yüzey seviyesinde hareket ettiği düşünülmektedir. Genel olarak, darbeli ışık, yoğun ve geniş spektrumlu kısa süreli ışık darbelerinin uygulanmasını içermektedir. Mikrobiyal inaktivasyon mekanizması ile ilgili olarak, mikrobiyal DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) UV (Ultraviyole) ışığını absorbe etmekte, yapısında fizikokimyasal değişiklikler oluşmakta, ardından hücre ölümüne yol açabilecek replikasyon ve gen transkripsiyonu engellenmektedir (Mahendran ve ark., 2019). Bu nedenle, gıdalarda darbeli ışık uygulanmasına ilişkin çalışmaların çoğu, gıdaların korunması ve ambalaj malzemelerinin dekontaminasyonu ile ilgili bulunmaktadır.

Soğuk Plazma Teknolojisi

Isıl olmayan uygulamaları içeren soğuk plazma (CP) teknolojisi gıda ürünlerinin güvenliği ve kalitesi için ortaya çıkan çok yeni bir teknolojidir. Plazma, maddenin dördüncü halidir ve CP, oda sıcaklığında, atmosfer basıncında veya düşük basınçta (vakum) bir gazdaki elektrik salınımı yoluyla indüklenebilmektedir. Bu iyonlaştırıcı gaz, serbest elektronlar, iyonlar ve nötr parçacıkların yanı sıra, kovalent bağları kırmak ve sayısız kimyasal reaksiyonları indüklemek için yeterli elektrik enerjisiyle sürekli etkileşim içinde olan reaktif türlerden (süperoksit, hidroksil radikalleri, nitrik oksit, ozon ve diğerleri gibi) oluşmaktadır (Liao ve ark., 2017). CP tarafından üretilen bileşiklerin, mikrobiyal inaktivasyonda kritik bir role sahip olduğu yaygın olarak belirtilmiştir. Ayrıca proteinler, lipidler, su, karbonhidratlar ve fenolik bileşikler gibi gıda bileşenleri ile de etkileşimin olduğu saptanmıştır (Priyadarshini ve ark., 2019; Akarca ve ark., 2022).

Soğuk plazma, 25-65°C sıcaklık aralığında uygulanan termal olmayan bir işlemdir. Bilindiği gibi gaz iyonlaştığında serbest radikaller (iyonlar, elektronlar vb.) oluşmaktadır. Plazma reaktif türlerinin bileşimi büyük ölçüde iyonize olan gazın bileşimine bağlı bulunmaktadır. Plazma üretimi için yaygın olarak kullanılan gazlar arasında argon, helyum, oksijen, nitrojen ve hava sayılabilmektedir (Keener ve Misra, 2016). Plazma üretimi sırasında oluşan hücre yüzeylerinde aşındırma yapan reaktif türler, bileşiklerin buharlaşması, UV fotonlarının içsel fotodesorpsiyonu ve genetik materyalin yok edilmesi, plazma tarafından tetiklenen ve hücre ölümüne katkıda bulunan üç mekanizmadır (Coutinho ve ark., 2018). Plazmanın açığa çıkmasından sonra, mikroorganizmalar, bakteri yüzeyine emilen ve yüzeyde yırtılmaya neden olan uçucu bileşikler (CO_2 ve H_2O) oluşturan ve ayrıca hücre ölümüyle sonuçlanan radikaller (OH ve NO) tarafından bombardımana tutulmaktadır (Xu ve ark., 2021). Ayrıca, CP, nemli hava plazması tarafından tetiklenen asitleşme ile membran geçirgenliğini artıran, hücre transmembran potansiyelini değiştiren ve hücre içi pH'yı düzenleyen gözeneklere de neden olabilmektedir. Ayrıca, aktif türlerin girişine de izin vererek, DNA'ya, proteinlere ve diğer iç hücre bileşenlerine zarar vererek hücre iç sıvısının serbest bırakılmasına katkıda bulunmaktadır (Phan ve ark., 2017).

CP'nin etkili uygulanması için gaz bileşimi, gaz akışı, elektrik girişi (voltaj, frekans, güç), plazmaya maruz kalma modu (uygulama doğrudan veya dolaylı/uzaktan olabilir), uygulama süresi ve bağıl nem gibi temel parametreler dikkate alınmalıdır. Ayrıca, ürünün özelliği (sıvı veya katı), mikroorganizmaların başlangıç konsantrasyonu ve gıda bileşimi gibi ürün parametreleri de öneme sahip bulunmaktadır (Misra ve Jo, 2017; Jadhav ve ark., 2021). CP'nin işlenmesi, istenen gıda ürününün hacmi ve boyutu gibi bazı alanlarda dezavantajlara sahip bulunmaktadır. Mikrobiyal inaktivasyon, reaktif plazma türlerinin çok az penetrasyon gücü nedeniyle gıda yüzeyinde meydana gelmektedir. Bu nedenle bu, işlenecek bir ürünü seçerken dikkate alınması gereken en önemli noktalardan birisidir. Ek olarak, başta enerji ve genel üretim olmak üzere ekonomik maliyeti açısından gıda endüstrisinde uygulanabilirliği dikkate alınmalıdır (Coutinho ve ark., 2018).

Süper Kritik Karbondioksit

Süperkritik teknolojisinde, çeşitli uygulamalarda kullanılan organik çözücülerin yerine geçebileceği düşünülen süperkritik akışkanlardan yararlanılmaktadır (Temelli ve ark., 2012). Süperkritik akışkanlar, kritik değerlerinin üzerinde basınç ve sıcaklık sunan, akışkanların fizikokimyasal özelliklerini değiştiren, viskozite, difüzyon, yoğunluk, dielektrik sabiti ve çözücü özelliklerini iyileştiren ve süper kritik akışkanı mükemmel çözücüler yapan maddelerdir (Knez ve ark., 2019). Bu teknoloji, laboratuvarlarda gıda sistemini stabil hale getirmek için gıda gibi farklı miktarlarda çeşitli nutrasötik/biyokimyasal bileşikler içeren karmaşık matrisleri saflaştırmak ve ayırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, son zamanlarda mikrobiyal inaktivasyon, enzim inaktivasyonu ve mikroenkapsülasyon gibi gıda işleme amaçları için birçok farklı uygulamalarda da incelenmektedir (Amaral ve ark., 2017; Silva ve ark., 2020).

Birçok akışkan süper kritik durumda kullanılabilir. Bunlar içerisinde en çok kullanılan ve avantajlı olanı, çok çeşitli yiyecekler için de verimli olan karbondioksittir (CO₂). CO₂ atmosferde bulunan bir gazdır, kullanımı güvenlidir ve geri dönüştürülebilir. Bu nedenle süper kritik karbondioksit teknolojisi (SC-CO₂) diğer teknolojilere göre çevre dostu olan bir teknoloji olarak kabul edilmektedir (Matos ve ark., 2018). Yöntem, çeşitli matrislerden biyoaktif bileşiklerin ayrılmasının yanı sıra, SC-CO₂ bozulma ve patojenik mikroorganizmaları etkisiz hale getirerek gıda ürünlerini korumak için kullanılabilir. SC-CO₂, işleme sıcaklığına, basınca ve CO₂ konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizmaları inaktive etmektedir. SC-CO₂, orta derece bir sıcaklık (31,1°C) ve basınç (7,38 MPa) kullanan termal olmayan bir teknolojidir. Mikroorganizmaların inaktivasyonu, CO₂ ile oksijenin yer değiştirmesi ile meydana gelmekte ve mikrobiyal gelişmeyi engellemek için pH düşmektedir (Amaral ve ark., 2017; Jadhav ve ark., 2021).

Ohmik Isıtma

Ohmik ısıtma (OH), bir elektrik akımının gıdadan geçtiği ve gıda bileşenlerinin elektrik direnci nedeniyle ısı oluşturduğu bir ısıtma yöntemidir. Joule ısıtma, elektro iletken ısıtma veya elektro ısıtma olarak da bilinmektedir (Tinoco ve ark., 2020). OH, elektrik akımı gıdadaki iletken malzemeden geçtiğinde elektrik enerjisini termal enerjiye dönüştürmektedir. Geçen elektriğin direnci atomları harekete geçirmekte ve parçacıkları yükleyerek sıcaklıkta bir artışa neden olmaktadır. Bu teknoloji, sıvı yumurtaların pastörizasyonu ve meyve ürünlerinin işlenmesi dahil olmak üzere bazı endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır. OH, gıda ürünlerinin haşlama, buharlaştırma, dehidrasyon, fermentasyon, ekstraksiyon, sterilizasyon ve pastörizasyonu için alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Varghese ve ark., 2014; Kaur ve Singh, 2016; Cappato ve ark., 2017; Makroo ve ark., 2020).

OH, çok çeşitli sıvı gıda ürünlerini işlemek için su, mineraller ve proteinler gibi polar bileşenler nedeni ile önerilmektedir. OH uygulaması için kritik ön koşul, malzemenin su ve iyon içeriği dikkate alındığında elektriksel olarak iletken olması gerektirir (Parmar ve ark., 2018). OH tekniği, mikrodalga ve radyofrekans ısıtmaya kıyasla herhangi bir penetrasyon derinliği sınırlanmasına sahip değildir. Bununla birlikte, OH'deki

elektrotlar, enerjiyi modüle etmek için yeterli sıvı içeren gıda ile temas etmelidir. Böylece, geleneksel ısıtma işlemi aksine, OH ürünün tüm kütlelerini eşit şekilde ısıtmakta ve besin bileşenlerin bozulmasını önleyerek yüksek kaliteli ürünler ortaya çıkmaktadır (Cappato ve ark., 2017).

Gıda ürünlerinde OH tarafından üretilen elektrik alan, farklı frekansların uygulanmasıyla nem içerikli nişasta jelatinleşmesini etkilemekte farklı voltajlarla, işleme süresine bağlı olarak gıda kaynaklı kontaminasyon oluşturan mikroorganizmaların ve patojenlerin etkisiz hale getirebilmesini sağlamaktadır (Makroo ve ark., 2020). Kim ve Kang (2015), Rodrigues (2017), Pereira ve ark. (2020), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* ve *Salmonella* gibi gıda kaynaklı patojenlerin, öldürücü olmayan pastörizasyon sıcaklıkları (65°C) altında, geleneksel pastörizasyon ısıtma yöntemine kıyasla inaktivasyon kinetiğini incelemişler ve OH'nin daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca bu yöntem ile süt ve süt ürünlerinde daha hızlı ve homojen ısınma meydana geldiğini belirtmişlerdir. Birçok çalışmada, OH'nin işlem sırasında biyoaktif bileşikler etkilemediği belirtilmektedir (Makroo ve ark., 2020; Pires ve ark., 2019; Rocha ve ark., 2020).

OH teknolojisi uygulandığında biyo-bileşiklerin bozunma mekanizması ve gıdanın ısıtma maruz bırakılma süresi sıcaklık ile ilgili olduğundan, geleneksel ısıtma pastörizasyonundan daha kısa sürede gerçekleşmesi ile avantajlar sağlamaktadır (Salari ve Jafari, 2020). Bu nedenle, OH kullanılarak geliştirilebilecek probiyotik ürünlerde, nutrasötik bileşiklerin korunması, biyoaktif peptitler ve fenolikler gibi mevcut fonksiyonel bileşenlerin değişimini incelemek önemli bir çalışma alanı oluşturabilecektir.

Probiyotik Ürünlerde Uygulamalar

Isıl işleme alternatif teknolojilerin uygulanmasında, probiyotikler, prebiyotikler ve postbiyotikler, işlem öncesi veya sonrası prosese dahil edilebilir. Esas olarak bu aşama, istenen üründe raf ömrü boyunca probiyotik bakteri canlılığının sağlanması açısından önemlidir (Barros ve ark., 2021b). Prebiyotik bileşenler genellikle ısıtma işleminden önce eklenmekte ve dolayısıyla yeni teknolojilerin uygulanmasından önce kullanılmaktadır. Probiyotik ürünler söz konusu olduğunda, ısıya duyarlılıkları nedeni ile bakteri kültürleri genellikle ısıtma işleminden sonra eklendiği gibi, alternatif yöntemin uygulanmasından sonra da ilave edilebilir. Bununla birlikte, ısıtma işlemi postbiyotik bileşiklerin oluşumunu engellediğine dair bir kanıt bulunmamaktadır. Genellikle probiyotik fermentasyonunun optimum gelişmemesi sonucunda postbiyotik oluşumu da azalabileceğinden bu tüm etkileyici faktörler için beklenen bir sonuçtur (Pérez-Sánchez ve ark., 2020).

Gelişen teknolojilerin çeşitli probiyotik bakteri türleri için araştırılması ve endüstriyel uygulamaları son yılların ilgi alanını oluşturmaktadır. Probiyotik suşlara uygulanan *in-vitro* çalışmalarda alternatif teknolojilerin etkisi Çizelge 1'de açıklanmaktadır. Bununla birlikte, gelişmekte olan her teknolojinin etkisinin, her probiyotik suşun metabolizmasına göre değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Çizelge 1. Isıl işleme alternatif gıda işleme teknolojilerinin *in vitro* ortamda probiyotikler üzerindeki etkileri
 Table 1. Effects of heat treatment alternative food processing technologies on probiotics in *in vitro* system

Probiyotik Mikroorganizma	Yöntem	Etki Mekanizması	Faydalı Etki/Avantajlar	Kaynak
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactocaseibacillus casei</i>	HIUS (30 kHz, 20, 60 ve 100 W 1, 2 ve 3 dakika)	-Bakteriyel hücre canlılığı, daha yüksek yoğunluklarda ve daha uzun sürelerdeki uygulama sonrasında azalmaktadır. -Ultrason uygulaması, kolesterolün hücre zarına dahil edilmesini arttırmaktadır.	-Laktobasillerin hücre zarında yer alması, ortamda kolesterolü düşürmektedir.	(Lye ve ark., 2012)
<i>Limosilactobacillus reuteri</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>B.infantis</i>	HIUS (20 kHz, 52-104 W, 2-6 dakika, 2 saniyelik darbe)	-Ultrason uygulaması, <i>L. reuteri</i> 'nin Caco ₂ hücrelerine hidrofobikliği ve yapışması üzerinde olumlu etki yapmaktadır. -Diğer suşları kullanırken asit ve safra direnci üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir.	-US'e maruz kaldıktan sonra <i>L. reuteri</i> yapışmasını iyileştiren veya modüle eden hidrofobikliği ve Caco ₂ hücrelerine yapışmayı arttırmaktadır.	(Racioppo ve ark., 2017)
<i>L. paracasei</i> A13, <i>L. acidophilus</i> 08 ve Dru. <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> 200	HPP homojenizasyon (50 Mpa)	-Probiyotik özellikler üzerindeki HPP etkisi esas olarak türe bağlıdır. - <i>L. paracasei</i> A13, HPP işleminden sonra hidrofobikliği ve otoagregasyon kapasitesini arttırmıştır. -Safra direncinde azalma belirlenmemiştir. -HPH uygulaması ile <i>L. paracasei</i> A13 için, simüle edilmiş gastrik sindirime karşı gelişmiş direnç belirlenmemiştir.	-Hammadde kalitesini ve besin varlığını geliştirmektedir. - Canlılığı ve gastrointestinal sıvı direncini artıran daha güvenli bir ürünle sonuçlanmaktadır.	(Tabanelli,2013)
<i>L. acidophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. casei</i>	PEF (4 ms için 7,5 kV/cm)	- <i>Laktobacil</i> hücrelerinin gelişmesini arttırmaktadır -Elektroporasyon, kolesterolün hücre zarlarına dahil edilmesini arttırmıştır.	- <i>Laktobasil</i> hücre zarına dahil edilerek ortamda kolesterol düşürme yeteneğine sahiptir.	(Lye ve ark., 2011)
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> BT8219	PEF (4 ms için 7,5 kV/cm)	-Elektroporasyon, <i>L. fermentum</i> 'un asit toleransını pH 3 de iken etkilememiştir, ancak pH 2'de azaltmıştır. -Ana probiyotik hücrelerin elektroporasyonu ayrıca safra asitlerine, antimikrobiyal aktiviteye ve yapışma kabiliyetine karşı toleransı azaltmıştır; ancak probiyotik özellikler aşağıdaki alt kültürlerde geri kazanılmıştır.	-Elektroporasyon, fonksiyonel gıdalar geliştirmeye yönelik bir strateji olan probiyotik <i>L. Fermentum</i> BT 8219 ile fermantasyon yoluyla biyotin-soya sütü karışımının biyoaktivitesini arttırmaktadır.	(Ewe ve ark., 2012a)
<i>L. acidophilus</i>	OH (V/cm, 60 Hz)	-Geleneksel fermantasyon ile karşılaştırıldığında, orta derecede bir elektrik alanı uygulandığında bakteriyosin aktivitesi artmaktadır.	-Fermantasyon süresi optimize edilmektedir ve bakteriyosin üretimini arttırmaktadır.	(Loghavi ve ark., 2007; Loghavi ve ark., 2008)

Çizelge 2. Probiyotik gıdalarda ısıya alternatif işleme teknolojilerinin uygulamaları

Table 2. Effects of heat treatment alternative food processing technologies on probiotics foods applications

Gıda	Probiyotik Mikroorganizma	Yöntem	Etki Mekanizması	Kaynak
Fermente süt	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. lactis (Bb-12)</i> ve <i>B. longum (Bb-46)</i>	HIUS (20 kHz, W/mL için 7-15 dakika)	Ultrasonikasyon, fermantatif aktiviteyi, bifidobakter türlerinin gelişmesini ve ayrıca birincil organik asitlerin (laktik, asetik ve propiyonik asitler) üretimini desteklemiştir.	(Nguyen ve ark., 2012)
Fermente süt	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	OH (0, 4, 6 ve 8 V/cm)	Kontaminasyon sonrası üründe OH kullanımı, <i>L. monocytogenes</i> sayısını azaltırken, probiyotik hücrelerin canlılığını ve gastrointestinal koşulları desteklemiştir. OH ile işlenmiş ürün, daha yüksek bir biyoaktif bileşik içeriğine ve geliştirilmiş duyuusal kabule sahip olmuştur.	(Silva ve ark., 2021)
Fermente yağsız süt	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	HIUS (28 kHz, fermantasyonunun 9. saatinden başlayarak 35 dakika için 100 W/L darbeleri mod uygulanmıştır)	Yüksek yoğunluklu ultrason işleme ile peptit içeriği %64.23 artmıştır. US hücre dışı enzim aktivitelerini artırmıştır.	(Huang ve ark., 2019)
Italian Caciotta peyniri	<i>L. paracasei A13</i>	MRS besiyerinde probiyotik hücrelerinin HPP homojenizasyonu (50 MPa)	HPH ile işlenen ve peynire eklenen <i>L. paracasei</i> A13, işlenmemiş olanlara göre simüle gastrointestinal sindirime karşı daha direnç göstermiştir.	(Burns ve ark., 2015)
Dondurma	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	PEF (3,0 kV/cm için 0 dakika ve 1 Hz)	PEF uygulaması, kalsiyum iyonlarının biyoakümüülasyonunu ve donma işlemi sırasında <i>L. rhamnosus</i> 'un canlılığını artırmıştır.	(Pankiewicz ve ark., 2020)

Bu anlamda, gelişme parametrelerinin optimizasyonunun öncelikli olarak yapılması ilk adımı oluşturmaktadır. Gerçek anlamda ise, bu teknolojilerin, simüle edilmiş gastrointestinal sistemde probiyotiklerde direnç geliştirebileceği ve sistem üzerinde yapışma olarak probiyotik özellikleri iyileştirebileceği düşünülmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada HPP teknolojisinin, probiyotik *Lactocaseibacillus* türlerinin fonksiyonel ve biyolojik özelliklerini 50 MPa'nın altında stimule ettiği saptanmıştır. HPP'nin hücre canlılığını ve dekarboksilaz aktivitesini değiştirmeden hücre zarı hidrofobikliğini ve agregasyonu modüle edebileceği belirlenmiştir. Bununla birlikte, gastrointestinal direnç üzerindeki etkinin ise suşa bağlı olarak ortaya çıktığı vurgulanmıştır (Tabanelli, 2013).

Bir diğer yandan, HIUS ve PEF, probiyotik hücre zarı özelliklerini değiştirerek probiyotiklerin bağırsak hücre yüzeyine yapışmasını arttırmakta ve konakçının kan dolaşımındaki kolesterol seviyesini azaltmaktadır. Lye ve ark. (2011) *in-vitro* olarak *Lactocaseibacillus* türlerinin membran üzerinde elektroporasyon yoluyla kolesterolü

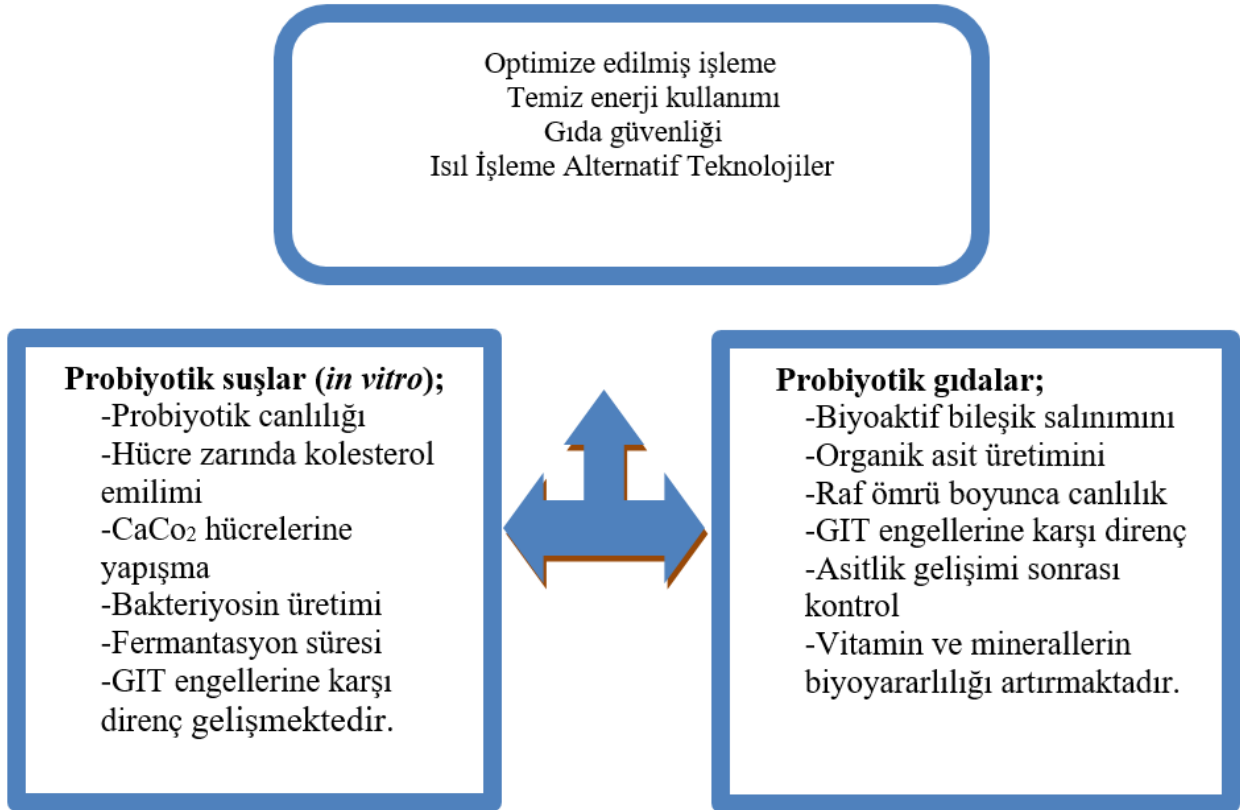
uzaklaştırma kabiliyetini arttırmak için PEF'i kullanmışlardır. Farklı süre ve farklı elektrik alan güçlerinde 4 ms için 7,5 kV/cm²'nin probiyotik canlılığını 0,89'dan 1,96 log CFU/mL'ye yükselttiğini saptanmışlardır. HIUS uygulaması, laktobasil hücrelerinin, kolesterol asimilasyonu ve artan membran geçirgenliği ile sonuçlanan bağırsak geçirgenliğini düzenleme yolu ile kolesterolü ortamdan uzaklaştırmıştır (Lye ve ark., 2012). PEF tekniği veya ultrasonun uygulandığı sinerjik bir sistemle bağırsak adezyonu ve geçirgenliğinin modüle edilebileceği belirtilmiştir. Ayrıca, PEF'in *in-vitro* probiyotik fermentasyon yolu ile vitamin biyoaktivitesini artırdığı da saptanmıştır. SC-CO₂ teknolojisi, bakterilerin biyoaktif moleküllerinin bir parçasını oluşturan ve terapötik amaçlar için kullanılabilen polar lipidleri probiyotik bakterilerden uzaklaştırmak için kullanılmıştır. Böylece, SC-CO₂ işleme sırasında probiyotik hücrelerden lipidleri uzaklaştırmak mümkün olmaktadır. Bu teknolojide lipid ekstraksiyonu ile solvent kullanmadan, kendiliğinden lipozomal yapılar (mikrokapsüller) oluşturan polar lipidler etkili bir şekilde ekstrakte edileceği

için probiyotiklerin kapsüllenmesine uygulanabilmektedir (Silva ve ark., 2020). Ancak, tüm bu çalışmalar belirli ve kontrollü ortamlarda *in-vitro* çalışmalar ile desteklenmelidir. Şekil 1'de alternatif teknolojilerin simbiyotik mekanizmalarda etkileri açıklanmaktadır. Gelişen teknolojilerin probiyotik türleri üzerinde uygulanmasını amaçlayan az sayıda çalışmaya rağmen, bu teknolojilerin probiyotik gıdalardaki potansiyel uygulamaları son yıllarda gelişmektedir. Probiyotiklerle güçlendirilmiş gıda ürünlerinde, probiyotik fermantasyonunu optimize etmek, desteklemek ve gıda matriksindeki biyoaktif bileşikleri korumak ve biyoyararlılığını artırmak için yeni teknolojiler kullanılmaktadır (Çizelge 2). Bununla birlikte, bu iyileştirmeler, farklı teknolojilerin ayrı ayrı veya bir araya getirilmesiyle farklı şekilde sonuçlanmaktadır. Alternatif bu teknolojilerin uygulanması ayrıca probiyotik kültürlerin fermantasyon yeteneğini geliştirmekte ve ürünlerin nutrasötik içeriğini etkilemektedir (Akarca ve ark., 2022).

Nguyen ve ark. (2009), süt fermantasyonu sırasında *Bifidobacterium* suşlarının fermantatif aktivitesinin etkilerini incelemek için HIUS'u kullanmışlardır. Kullanılan ultrason parametreleri 7, 15 ve 30 dakika boyunca 20 kHz frekansında yaklaşık 100 W dalga genliği olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, probiyotik canlılığının ultrason uygulamamış ürünle aynı olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte uygulama ile, hücre içi β -galaktosidazın parçalanmış hücrelerden salınması ile süt laktozu, canlı kalan bakteriler tarafından hidrolize edilmiş ve fermantasyon sırasında gelişmeyi artırmıştır. Ayrıca, transgalaktosilasyon, daha düşük laktoz içeriğine sahip

fermente sütte kısa zincirli oligosakkaritlerin (polimerizasyon derecesi=3) oluşumunu indüklemiştir. Nguyen ve ark. (2012) bir diğer çalışmada HIUS'un sütteki *Bifidobacterium* türlerinin laktoz hidrolizini ve transgalaktosilasyonunu hızlandırabildiğini belirtmişlerdir. *Bifidobacterium* türlerini içeren fermente sütte HIUS kullanımı avantajlar oluşturmuştur, çünkü HIUS hidrolize olan ve kalan probiyotiklerin gelişmesi için kolaylıkla temin edilebilen alt ürünlere dönüşen β -galaktosidazı serbest bırakarak sütteki laktozun azalmasından sorumlu olmaktadır. Ayrıca, fermente sütteki oligosakkarit ve aroma içeriği zenginleştirilerek fonksiyonel ve duyuşal açıdan yeni bir ürün geliştirilmiştir. Isıya alternatif teknolojilerin ayrıca değerlendirilen gıda ürünlerinin biyoaktif bileşik içeriğini ve sağlık etkilerini iyileştirdiği belirtilmiştir.

Pankiewicz ve ark. (2020) zenginleştirilmiş probiyotik dondurmada bakteri zarına kalsiyum iyonu bağlanmasını incelemek için probiyotik suş *Lactocaseibacillus rhamnosus B442* üzerinde PEF uygulanmıştır. PEF'in yüzey kalsiyum iyonu bağlama etkinliğini artırdığını ve elementleri hücresel yapılara dahil ettiğini doğrulamışlardır. Hücrelerde en yüksek Ca^{2+} iyon birikimi, PEF 3,0 kV/cm elektrik alan gücünde ve 200 μ g/mL ortam kalsiyum konsantrasyonunda uygulandığında elde edilmiştir. PEF, probiyotik bakteri zarına Ca^{2+} bağlanmasını geliştirmiş ve ayrıca, çözünebilir kalsiyumun (Ca^{2+}) insan ince bağırsağı ve kolonu tarafından emilime hazır olduğu için, probiyotik bakterilerin PEF'e tabi tutulduğu dondurmada Ca^{2+} 'nın konakçı için daha erişilebilir olacağını belirtmişlerdir (Jiang ve ark., 2020).



Şekil 1. Alternatif teknolojiler ve probiyotik bakteri-gıda matriksi etkileşimleri
Figure 1. Alternative technologies and probiotic bacteria food matrix interactions

Gelişen teknolojiler, gıda ürünlerinin probiyotik özelliklerini değiştirebilmektedir. Örneğin, Burns ve ark. (2015), probiyotik süşun arttırdığı biyoaktif bileşikleri incelemek için HPP homojenizasyonunu (50 MPa) kullanarak probiyotik Caciotta peyniri üretmişlerdir. HPP uygulaması sonucunda gastrointestinal bariyer sisteminin gelişimi yolu ile yüksek canlılıkta ve dirençli probiyotik gelişimi elde edilmiştir, bu da *L. paracasei* A13'un bağırsağa yeterince ulaşmasını ve konakçıya probiyotik faydalar sağlamasını etkilemiştir.

Silva ve ark. (2021) *L. acidophilus* içeren probiyotik fermente süt üretmek için ohmik ısıtma (0-8 V/cm) kullanmışlardır. Ürün, *Listeria monocytogenes* (9 log CFU/mL) ile fermantasyon sonrası kontaminasyona tabi tutulmuştur. OH kullanımı, *L. monocytogenes* sayılarını azaltırken ve probiyotik kültür için üründe canlılığı ve gastrointestinal koşulları simüle ettirmiştir. Ayrıca, OH ile muamele edilmiş ürün, daha yüksek bir biyoaktif bileşik içeriğine ve gelişmiş duyuşal kabul edilebilirliğe sahip olmuştur.

Probiyotik ürünlerde ısıtma alternatif teknolojilerin uygulamaları Şekil 1'de belirtilmektedir. Uygulanan alternatif teknolojilerin optimizasyonu ile, temiz, yenilebilir enerji kaynağı kullanımı ve gıda güvenliğinin sağlanması gibi endüstriyel avantajlar ile birlikte ayrıca, probiyotik bakterilerin canlılığı artırılmış, biyoaktif bileşikler, vitaminler ve gıda matrisindeki mineral biyoyararlılığı iyileştirilmiştir. Bu nedenle, ürünlerdeki probiyotik, biyoaktif özellikler (peptidler, fenolik bileşikler, flavonoidler ve aglikonlar) ve esansiyel bileşenlerin (vitaminler ve mineraller) varlığının korunması, geliştirebilir olması ve hatta biyoerişebilirliğinin yükseltilmesi gibi özellikler ile bu teknolojiler gıda endüstrisi için ilgi çekici olmaya devam etmektedir (Saarela, 2019).

Probiyotik içeren ürünler, sağlık etkileri sağlamak için probiyotik bileşenleri uygun konsantrasyonlar içerisinde bulundurmaktadır. Ancak alternatif teknolojilerin uygulanmasından sonra probiyotik stabilitenin değerlendirilmesi gerekmektedir. Çizelge 3'de probiyotik gıdalara uygulanan alternatif teknolojilerin ana etkileri ve faydaları açıklanmaktadır.

Çizelge 3. Gelişmekte olan işleme teknolojilerinin probiyotik gıda ürünlerindeki uygulamaları

Table 3. Applications of emerging processing technologies in prebiotic food products

Gıda	Prebiyotik	Yöntem	Etki Mekanizması	Kaynak
FOS	FOS	HPP (450 Mpa, 5 dk, US (600-1200 W/L, 5 dk) CP (70 kV, 15-60 s)	HPP, US veya CP tarafından FOS hidrolizasyonu gerçekleşmemiştir.	(Alves Filho ve ark., 2016)
Kızılcık suyu	FOS	HPP (5 dk, 450 MPa) US, 5 dk (600 ve 1200 W/L)	FOS içeriğı korunmuştur. US'de işlemeden sonra yüksek organik asit (> %90) ve artan antosiyanin (%24) miktarı saptanmıştır. Renk, çözünür kuru madde içeriğinde ve pH'ta değişiklik olmamıştır.	(Gomes ve ark, 2017)
Portakal suyu	Farklı polimerizasyon derecelerine sahip oligosakkaritler	CP (15, 30, 45 veya 60 s için 70 kV) Ozon (0,057, 0,128 yük ya da 0,230 mg/ O ₃ .mL)	Kısmi oligosakkarit bozunması yaşanmamıştır. Fenolik içerik, antioksidan kapasite, pH ve renk korunmuştur.	(Almeida ve ark, 2015)
Portakal suyu	FOS	CP (15, 30, 45 ve 60 s için 70 kV) HPP (5 dk 11,5°C için 450 MPa)	HPP'den sonra FOS bozulması yaşanmıştır. Sitrik ve askorbik asit artmıştır.	(Almeida ve ark, 2017)
Peynir altı suyu içeceği	XOS	CP (0, 5, 10 ve 15 dk için 15 kV)	Düşük hidroksimetil furfural ve peynir altı suyu proteini nitrojen indeksi oluşmaktadır. Yüksek antioksidan aktivite, antihipertansif aktivite ve hipoglisemik aktivite oluşmuştur.	(Ribeiro ve ark, 2021)
Elma suyu	İnulin	SCF (10, 15 ve 20 Mpa, 35°C, 10 dk, ve %67 CO ₂ hacim oranı)	Meyve suyunda asılı kalan partikül boyutunun küçültülmesini sağlamıştır. Fonksiyonel bileşikler, sorbitol, glikoz, fruktoz ve sukroz artmaktadır. Antioksidan aktivitede azalmamıştır ve inülin polimerizasyon derecesi korunmaktadır.	(Silva ve ark, 2019b)

PREBİYOTİK



Şekil 2. Alternatif ısı işleme uygulamaları ve prebiyotik gıdalar üzerindeki etkileri
Figure 2. Alternative heat treatment applications and their effects on prebiotic foods

Alves Filho ve ark. (2016), ultrason (600 ve 1200 W/L, 5 dak), yüksek basınç (450 MPa, 300 s) ve soğuk plazma (15-60 s, 70 kV, doğrudan veya dolaylı) gibi teknolojilerin FOS stabilitesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Gelişmekte olan teknolojilerin, FOS konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır. Ancak bu, prebiyotik bileşene bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle, bu yönde daha fazla araştırmanın yapılması gerekmektedir.

Ribeiro ve ark. (2021), soğuk plazma (0-15 dakika) XOS (%1,5) uygulanmış peynir altı suyu sütlü içeceklerinin özelliklerini değerlendirmiştir. Soğuk plazma veya pastörizasyon uygulaması, işlenmemiş ürüne kıyasla daha düşük renk yoğunluğu, kıvam, görünür viskozite değerleri ortaya çıkarırken, duyu özelliklerinde değişiklik ortaya çıkmamıştır. XOS üzerinde ise herhangi bir etki belirlenmemiştir. Ancak, soğuk plazma uygulanmış ürünlerde, pastörize üründen daha yüksek konsantrasyonlarda biyoaktif bileşik (antioksidan aktivite ve ACE, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu) belirlenmiştir.

Gomes ve ark. (2017), prebiyotik kızılık suyunun özellikleri üzerinde HPP (450 MPa, 5 dak) ve US (600 ve 1200 W/L, 5 dak)'nin etkisini incelemişlerdir. Meyve sularında her iki teknoloji ile işlendiğinde daha yüksek antosiyanin konsantrasyonları saptanmıştır. Silva ve ark. (2019b), SC-CO₂'nin (10-20 MPa, 35°C, 10 dakika, %67

CO₂ hacim oranı) prebiyotik (inülin) elma suyunun özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Ürünün fonksiyonel özellikleri, antioksidan aktivitesi ve doğal bileşenleri muhafaza edilmiştir. Bu sonuçlar, ortaya çıkan çeşitli teknolojiler için geleneksel ısıtmaya kıyasla ürünlerde prebiyotik stabilitenin ve daha yüksek biyoaktif bileşik konsantrasyonlarının korunduğunu ortaya çıkarmaktadır. Guimaraes ve ark. (2019b), HIUS'un (0-600 W) inülin içeren prebiyotik peynir altı suyu içeceklerinin özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, HIUS'un ürünlerin besin profilini iyileştirdiğini bildirmişlerdir (daha yüksek fenolik bileşik içeriği, antioksidan aktivite ve antihipertansif aktivite). Aynı zamanda, Rodriguez ve ark. (2017), soğuk plazma ile işlem görmüş meyve sularında, daha yüksek C vitamini, polifenol ve flavonoid içerikleri ile yüksek antioksidan aktivite saptamışlardır. Ancak, soğuk plazmaya aşırı maruz kalma ise bu parametreleri olumsuz etkilemiştir.

Alternatif proses parametrelerinin optimize edilmesi prebiyotik konsantrasyonlarını değiştirmemektedir (Alves Filho ve ark., 2016; Ribeiro ve ark., 2021). Ancak antioksidan aktivite, polifenoller ve flavonoidler gibi gıda özellikleri üzerindeki olumlu etkiyi arttırmaktadır (Rodríguez ve ark., 2017). Literatüre göre prebiyotik gıdalara uygulanan alternatif ısı teknolojilerinin olumlu etkileri Şekil 2'de açıklanmaktadır.

Sağlık etkileri olan postbiyotikleri elde etmek için de alternatif teknolojiler uygulanabilmektedir (Çizelge 4). Brandao ve ark. (2021) HIUS (40 dakika boyunca 20 Hz) kullanarak probiyotik kültürleri (*L. casei*) incelemişlerdir. Araştırmacılar hem canlı hem de ultrasonla inaktif edilmiş probiyotiklerin kolesterol seviyelerindeki artışı ve insülin direncini önleyebildiğini ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiğini saptamışlardır. Postbiyotik ürünler ayrıca kan basıncını da azaltmıştır. Sonuçlar, gıda matriksinde probiyotik bakterilerin aktivitesi ile serbest hale geçen metabolit bileşiklerinin tüketiciler üzerinde sağlık etkileri olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca çalışmalar, endüstrinin gelişen teknolojileri kullanarak sağlık özellikleri artırılmış postbiyotikler elde etmek için fırsatlar sunduğunu göstermektedir.

Almada ve ark. (2021b), postbiyotik uygulamanın Wistar erkek sıçanların bağırsak mikrobiyotası ve biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Uygulama sonucunda SC-CO₂, kreatinin ve albümin seviyelerini artırırken ve toplam ve HDL kolesterolü düşürmüştür. Barros ve ark. (2021a), postbiyotikleri (*L. acidophilus*, *L. casei* ve *B. animalis*) elde etmek için ohmik ısıtmayı (60 Hz'de 4. 8 ve 12 V/cm) kullanmışlardır. Araştırmacılar, OH'nin postbiyotik oluşumu için yeterli bir teknoloji olduğunu, 8 V/cm ve 95°C/7 dakika ile geleneksel ısıtma göre probiyotik hücre zarı bütünlüğüne daha az zarar verdiğini belirtmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada ise sağlıklı bireylere önceki araştırmanın şartları ile elde edilen postbiyotik içeren (*L. casei*) peynir altı suyu-üzüm suyu verilmiş ve postprandiyal glisemiye etkisi değerlendirilmiştir. Etki, probiyotik peynir altı suyu içeceği ile karşılaştırılmıştır. Postbiyotik ve probiyotik peynir altı suyu içeceklerinin uygulanması, şeker içeriklerinden dolayı glikozu arttırmıştır. Bununla birlikte, probiyotik ve postbiyotik ürünler glisemik tepkiyi azaltmış ve maksimum glikoz artışını engellemiştir. Bu çalışmalar, OH ile elde edilen postbiyotiklerin, probiyotik ürünlere

benzer veya daha üstün sağlık etkilerine sahip olabileceğini göstermiştir (Barros ve ark., 2021a).

Genel olarak, gelişen teknolojilerin avantajlarını işlevsel bir bakış açısıyla açıklamak için yeterli örnek büyüklüğü ve tanımlanmış klinik sonuçlar ile birlikte gelişmekte olan teknolojilerin uygulandığı gıda sistemelerinde üretilen postbiyotiklerin kullanıldığı farklı hayvan/insan klinik deneylerine daha fazla ihtiyaç göstermektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, probiyotik ve prebiyotik ürünlerde gelişen teknolojilerin uygulanması, probiyotiklerin canlılığını ve ürünlerin strese karşı direncini artırmakta, sindirim koşullarını probiyotikler lehine iyileştirmekte ve biyoaktif bileşiklere yüksek biyoerişilebilir özellik kazandırmaktadır. Ayrıca, gıda endüstrisi için önemli bir teknolojik parametre olan fermantasyon süresini azaltmak ve ürünlerin duyuşal özelliklerini geliştirmek için de kullanılabilir. Prebiyotik bileşenler, gelişen teknolojilerin çoğuna karşı kararlı özellik göstermektedir. Probiyotik özellikler üzerinde farklı alternatif teknikler kullanılarak probiyotik hücre zarına kolesterol bağlanmasının iyileştirilmesi, Caco-2'ye artan probiyotik yapışma, probiyotik fermantasyonu ve bakteriyosin üretiminin optimizasyonu, artan probiyotik gelişme/canlılık, vitamin biyoaktivitesi ve gastrointestinal direncin artırılması gibi olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Ancak çalışmaların çoğu *in-vitro* olarak gerçekleştirilmiştir ve gelişen teknolojilerin uygulandığı ürünlerin sağlığa etkilerinin *in-vivo* testlerle de değerlendirilmesi gerekmektedir. Günümüzde ısıtma alternatif teknolojilerin farklı gıdalara uygulanması ile tüketiciler çevre dostu yenilenebilir enerji kaynaklarını etkin şekilde kullanabilmektedir. Gıda endüstrisi için çevresel etkisi az sağlıklı gıda ürünlerini geliştirmek alternatif teknolojiler ile sağlanabilecektir.

Çizelge 4. Alternatif teknolojiler, postbiyotik ve gıda interaksiyonlarının klinik denemelerdeki uygulamaları
Table 4. Applications of alternative technologies, postbiotics and food interactions in clinical trials

Gıda	Postbiotik	Yöntem	Etki Mekanizması	Kaynak
Yüksek yağlı diyet yiyeceği	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	US (20 kHz, 40 dk)	Toplam kolesterolü ve LDL artışını önlemekte, insülin direncini kontrol etmektedir. Bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek faydalı bakterileri arttırmakta ve zararlı bakterileri azaltmaktadır. Tansiyonu düşürmektedir.	(Brandão ve ark., 2021)
Gıda	<i>Bifidobacterium lactis</i>	SCF (10 MPa da CO ₂ , 180 derece 40 dk)	Albümin ve kreatinin seviyelerini artırmaktadır. HDL kolesterol seviyelerini azaltmaktadır.	(Almada ve ark., 2021b)
Peynir altı suyu/üzüm suyu içeceği	<i>Lacticaseibacillus casei 01</i>	OH (8 V/cm, 95 C/7 dk, 60 Hz)	Probiyotik içeceğin benzer hipoglisemik aktivitesini ve glisemik reaksiyonu azaltmaktadır. Maksimum glikoz artışını korumaktadır. Postprandial glisemiye azaltmaktadır.	(Barros ve ark., 2021a)

Kaynaklar

- Abida J, Rayees B, Masoodi F. 2014. Pulsed light technology: A novel method for food preservation. *International Food Research Journal*, 21(3): 839-848.
- Aganovic K, Hertel C, Vogel R, Johne FR, Schlüter O, Schwarzenbolz U, Jäger H, Holzhauser T, Bergmair J, Roth A, Sevenich R, Bandick N, Kulling SE, Knorr D, Engel KH, Volker H. 2021. Aspects of high hydrostatic pressure food processing: Perspectives on technology and food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20: 3225-3266. doi: 10.1111/1541-4337.12763
- Akarca G, Ozkan M, Ozcan T. 2022. The impact of combination of solution plasma processing and pulsed electric field on the viability of probiotic bacteria, microbial growth, and structure of yoghurt drink. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46:1-15. doi: 10.1111/jfpp.16616
- Almada CN, Almada-Érix CN, Costa WKA, Graça JS, Cabral L, Noronha M.F, Sant'Ana AS. 2021a. Wheat-durum pasta added of inactivated *Bifidobacterium animalis* decreases glucose and total cholesterol levels and modulates gut microbiota in healthy rats. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 72(6): 781-793. doi: 10.1080/09637486.2021.1877261
- Almada CN, Almada-Érix CN, Roquette AR, Santos-Junior VA, Cabral L, Noronha MF, Gonçalves AESS, Santos PD, Santos AD, Martinez J, Lollo PC, Costa WKA, Magnani M Sant'Ana AS. 2021b. Paraprobiotics obtained by six different inactivation processes: impacts on the biochemical parameters and intestinal microbiota of Wistar male rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(8): 1057-1070. doi: 10.1080/09637486.2021.1906211
- Almeida FDL, Cavalcante RS, Cullen PJ, Frias JM, Bourke P, Fernandes FA, Rodrigues S. 2015. Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32: 127-135. doi: 10.1016/j.ifset.2015.09.001
- Almeida FDL, Gomes WF, Cavalcante RS, Tiwari BK, Cullen PJ, Frias JM, Rodrigues S. 2017. Fructooligosaccharides integrity after atmospheric cold plasma and high-pressure processing of a functional orange juice. *Food Research International*, 102: 282-290. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.072
- Alves Filho EG, Cullen PJ, Frias JM, Bourke P, Tiwari BK, Brito ES, Tiwari BK, Brito ES, Rodrigue S, Fernandes FA. 2016. Evaluation of plasma, high-pressure and ultrasound processing on the stability of fructooligosaccharides. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(9): 2034-2040. doi: 10.1111/ijfs.13175
- Amaral GV, Silva EK, Cavalcanti RN, Cappato LP, Guimaraes JT, Alvarenga VO, Cruz AG. 2017. Dairy processing using supercritical carbon dioxide technology: Theoretical fundamentals, quality and safety aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 64: 94-101.
- Augusto PE. 2020. Challenges, trends and opportunities in food processing. *Current Opinion in Food Science*, 35: 72-78. doi: 10.1016/j.tifs.2017.04.004
- Balthazar CF, Pimentel TC, Ferrão LL, Almada CN, Santillo A, Albenzio M, Cruz AG. 2017. Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2): 247-262. doi: 10.1111/1541-4337.12250
- Balthazar C, Santillo A, Guimarães J, Capozzi V, Russo P, Caroprese M, Silva M. 2019. Novel milk–juice beverage with fermented sheep milk and strawberry (*Fragaria ananassa*): Nutritional and functional characterization. *Journal of Dairy Science*, 102(12): 10724-10736. doi: 10.3168/jds.2019-16909
- Barba FJ, Galanakis CM, Esteve MJ, Frigola A, Vorobiev E. 2015. Potential use of pulsed electric technologies and ultrasounds to improve the recovery of high-added value compounds from blackberries. *Journal of Food Engineering*, 167: 38-44. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.02.001
- Barba FJ, Koubaa M, Prado-Silva L, Orlien V, Sant'Ana ADS. 2017. Mild processing applied to the inactivation of the main foodborne bacterial pathogens: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 66: 20-35. doi: 10.1016/j.tifs.2017.05.011
- Barros CP, Pires RPS, Guimarães JT, Abud YKD, Almada CN, Pimentel TC, Cruz AG. 2021a. Ohmic heating as a method of obtaining paraprobiotics: Impacts on cell structure and viability by flow cytometry. *Food Research International*, 140: 110061. doi: 10.1016/j.foodres.2020.110061
- Barros S, Rocha C, Moura M, Barcelos MP, Silva C, Hage-Melim L. 2021b. Potential beneficial effects of kefir and its postbiotic, kefirin, on child food allergy. *Food and Function*, 12(9): 3770-3786. doi: 10.1039/d1fo03182h
- Brandão LR, Brito Alves JL, Costa W, Ferreira G, Oliveira MP, Gomes Cruz A, Braga VA, Aquino JS, Vidal H, Noronha MF, Cabral L, Pimentel TC, Magnani M. 2021. Live and ultrasound-inactivated *Lactocaseibacillus casei* modulate the intestinal microbiota and improve biochemical and cardiovascular parameters in male rats fed a high-fat diet. *Food and Function*, 12: 5287-5300. doi: 10.1039/d1fo01064f
- Burns PG, Patrignani F, Tabanelli G, Vinderola GC, Siroli L, Reinheimer JA, Lanciotti R. 2015. Potential of high pressure homogenisation on probiotic Caciotta cheese quality and functionality. *Journal of Functional Foods*, 13: 126-136. doi: 10.5772/intechopen.74448
- Cappato LP, Ferreira MVS, Guimaraes JT, Portela JB, Costa ALR, Freitas MQ, Cruz AG. 2017. Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends in Food Science & Technology*, 62: 104-112. doi: 10.1016/j.tifs.2017.01.010
- Coutinho NM, Silveira MR, Rocha RS, Moraes J, Ferreira MVS, Pimentel TC, Cruz AG. 2018. Cold plasma processing of milk and dairy products. *Trends in Food Science and Technology*, 74: 56-68. doi: 10.1016/j.tifs.2018.02.008
- Díaz LD, Fernández-Ruiz V, Cámara M. 2020. An international regulatory review of food health-related claims in functional food products labeling. *Journal of Functional Foods*, 68. doi: 10.1016/j.jff.2020.103896
- Ewe JA, Wan-Abdullah WN, Alias AK, Liang MT. 2012a. Bioconversion of isoflavones and the probiotic properties of the electroporated parent and subsequent three subcultures of *Lactobacillus fermentum* BT 8219 in biotin-soymilk. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(7): 947-959. doi: 10.4014/jmb.1112.12044
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott S.L, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. 2017. The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews in Gastroenterology and Hepatology*, 14: 491-502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75
- Gomes WF, Tiwari BK, Rodriguez Ó, Brito ES, Fernandes FAN, Rodrigues S. 2017. Effect of ultrasound followed by high pressure processing on prebiotic cranberry juice. *Food Chemistry*, 218: 261-268. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.132
- Gómez-López VM, Koutchma T, Linden K. 2012. Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods, 185-223. doi: 10.1016/B978-0-12-381470-8.00008-6

- González-Herrera SM, Bermúdez-Quiñones G, Ochoa-Martínez LA, Rutiaga-Quiñones OM, Gallegos-Infante J.A. 2021. Synbiotics: A technological approach in food applications. *Journal of Food Science and Technology*, 58(3): 811-824. doi: 10.1007/s13197-020-04532-0
- Granato D, Barba FJ, Kovačević DB, Lorenzo JM, Cruz AG, Putnik P. 2020. Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11: 93-118. doi: 10.1146/annurev-food-032519-051708
- Guimarães JT, Silva EK, Alvarenga VO, Costa ALR, Cunha RL, Sant'Ana AS, Cruz AG. 2018a. Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44: 251-260. doi: 10.1016/j.ulsonch.2018.02.012
- Guimarães JT, Silva EK, Freitas MQ, Almeida Meireles MA, Cruz AG. 2018b. Non-thermal emerging technologies and their effects on the functional properties of dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 22: 62-66. doi: 10.1016/j.cofs.2018.01.015
- Guimarães JT, Balthazar CF, Scudino H, Pimentel TC, Esmerino EA, Ashokkumar M, Cruz, AG. 2019a. Highintensity ultrasound: A novel technology for the development of probiotic andprebiotic dairy products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57: 12-21. doi: 10.1016/j.ulsonch.2019.05.004
- Guimarães JT, Silva EK, Ranadheera CS, Moraes J, Raices RSL, Silva MC, Cruz AG. 2019b. Effect of high-intensity a prebiotic soursop whey beverage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 55: 157-164. doi: 10.1016/j.ulsonch.2019.02.025
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Salminen S. 2014. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews in Gastroenterology and Hepatology*, 11(8): 506-514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66
- Huang G, Chen S, Tan Y, Dai C, Sun L, Ma H, He R. 2019. Stimulation of low intensity ultrasound on fermentation of skim milk medium for yield of yoghurt peptides by *Lactobacillus paracasei*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 51: 315-324. doi: 10.1016/j.ulsonch.2018.09.033
- Jadhav HB, Annature US, Deshmukh RR. 2021. Non-thermal Technologies for Food Processing. *Frontier in Nutrition*, 8: 657090. doi: 10.3389/fnut.2021.657090
- Jeong SY, Velmurugan P, Lim JM, Oh BT, Jeong DY. 2018. Photobiological (LED light)-mediated fermentation of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit with probiotic bacteria to yield bioactive compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 93: 158-166. doi: 10.1016/j.lwt.2018.03.038
- Jiang H, Horst RL, Koszewski NJ, Goff JP, Christakos S, Fleet JC. 2020. Targeting 1,25(OH)2D-mediated calcium absorption machinery in proximal colon with calcitriol glycosides and glucuronides. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 198: 105574. doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.105574
- Joshi S, Mobeen A, Jan K, Bashir K, Azad ZRAA. 2019. Emerging technologies in dairy processing: Present status and future potential. Health and safety aspects of food processing technologies, Springer International Publishing, 105-120. doi: 10.1007/978-3-030-24903-8_6
- Kaur N, Singh AK. 2016. Ohmic heating: Concept and applications: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(14): 2338-2351. doi: 10.1080/10408398.2013.835303
- Keener KM, Misra NN. 2016. Future of cold plasma in food processing. *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*. Washington, DC: Elsevier, 343-60. doi: 10.1016/B978-0-12-801365-6.00014-7
- Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3): 927-939. doi: 10.1016/j.jfda.2018.01.002
- Khouryieh HA. 2021. Novel and emerging technologies used by the US food processing industry. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67: 102559. doi: 10.1016/j.ifset.2020.102559
- Kim SS, Kang DH. 2015. Effect of milk fat content on the performance of ohmic heating for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, 119(2): 475-486. doi: 10.1111/jam.12867
- Knez Ž, Pantić M, Cör D, Novak Z, Knez Hrnčič M. 2019. Are supercritical fluids solvents for the future? *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 141: 107532. doi: 10.1016/j.ccep.2019.107532
- Knorr D, Froehling A, Jaeger H, Reineke K, Schlueter O, Schoessler K. 2011. Emerging technologies in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1): 203-235. doi: 10.1146/annurev.food.102308.124129
- Liao X, Liu D, Xiang Q, Ahn J, Chen S, Ye X, Ding T. 2017. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. *Food Control*, 75: 83-91. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.12.021
- Loghavi L, Sastry SK, Yousef AE. 2007. Effect of moderate electric field on the metabolic activity and growth kinetics of *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(4): 872-881. doi: 10.1002/bit.21465
- Loghavi L, Sastry SK, Yousef AE. 2008. Effect of moderate electric field frequency on growth kinetics and metabolic activity of *Lactobacillus acidophilus*. *Biotechnology Progress*, 24(1): 148-153. doi: 10.1021/bp070268v
- Longoria-García S, Cruz-Hernández MA, Flores-Verástegui M, Contreras-Esquivel JC, Montañez-Sáenz JC, BelmaresCerde RE. 2018. Potential functional bakery products as delivery systems for prebiotics and probiotics health enhancers. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3): 833-845. doi: 10.1007/s13197-017-2987-8
- Lye HS, Karim AA, Rusul G, Liong MT. 2011. Electroporation enhances the ability of lactobacilli to remove cholesterol. *Journal of Dairy Science*, 94(10): 4820-4830. doi: 10.3168/jds.2011-4426
- Lye HS, Alias KA, Rusul G, Liong MT. 2012. Ultrasound treatment enhances cholesterol removal ability of lactobacilli. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3): 632-641. doi: 10.1016/j.ulsonch.2011.08.004
- Mahendran R, Ramanan KR, Barba FJ, Lorenzo JM, LópezFernández O, Munekata PES, Tiwari BK. 2019. Recent advances in the application of pulsed light processing for improving food safety and increasing shelf life. *Trends in Food Science and Technology*, 88: 67-79. doi: 10.1016/j.tifs.2019.03.010
- Makroo HA, Rastogi NK, Srivastava B. 2020. Ohmic heating assisted inactivation of enzymes and microorganisms in foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 97: 451-465. doi: 10.1016/j.tifs.2020.01.015
- Mandal R, Kant R. 2017. High-pressure processing and its applications in the dairy industry. *Food Science and Technology Journal*, 1(1): 33-45.
- Martins CP, Cavalcanti RN, Couto SM, Moraes J, Esmerino EA, Silva MC, Tadani CC. 2019. Microwave processing: current background and effects on the physicochemical and microbiological aspects of dairy products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1): 67-83. doi: 10.1111/1541-4337.12409
- Mason T, Chemat F, Ashokkumar M. 2015. Power ultrasonics for food processing in: Ashokkumar M, editor. *Power Ultrasonics: Applications of High-Intensity Ultrasound*. Cambridge: Elsevier Ltd. 815-43. doi: 10.1016/B978-1-78242-028-6.00027-2

- Matos KHO, Lerin LA, Soares D, Soares LS, Lima M, Monteiro AR, Vladimir Oliveira J. 2018. Effect of supercritical carbon dioxide processing on *Vibrio parahaemolyticus* in nutrient broth and in oysters (*Crassostrea gigas*). *Journal of Food Science and Technology*, 55(10): 4090-4098. doi: 10.1007/s13197-018-3335-3
- McAuley CM, Singh TK, Haro-Maza JF, Williams R, Buckow R. 2016. Microbiological and physicochemical stability of raw, pasteurised or pulsed electric field-treated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38: 365-373. doi: 10.1016/j.ifset.2016.09.030
- McClements DJ, Grossmann L. 2021. The science of plantbased foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4): 4049-4100. doi: 10.1111/1541-4337.12771
- Misra NN, Jo C. 2017. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. *Trends in Food Science and Technology*, 64: 74-86. doi: 10.1016/j.tifs.2017.04.005
- Misra NN, Koubaa M, Roohinejad S, Juliano P, Alpas H, Inácio RS, Saraiva JA, Barba FJ. 2017. Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. *Food Research International*, 97: 318-339. doi: 10.1016/j.foodres.2017.05.001
- Narli MB, Ozcan T. 2022. Assessment of bifidogenic potential of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) extract in *in vitro* and milk fermentation models. *LWT-Food Science and Technology*, 157, 113071: 1-8. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113071
- Nguyen TMP, Lee YK, Zhou W. 2009. Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by highintensity ultrasound. *International Dairy Journal*, 19(6): 410-416. doi: 10.1016/j.idairyj.2009.02.004
- Nguyen TMP, Lee YK, Zhou W. 2012. Effect of high intensity ultrasound on carbohydrate metabolism of bifidobacteria in milk fermentation. *Food Chemistry*, 130(4): 866-874. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.108
- Nowosad K, Sujka M, Pankiewicz U, Kowalski R. 2021. The application of PEF technology in food processing and human nutrition. *Journal of Food Science and Technology*, 58(2): 397-411. doi: 10.1007/s13197-020-04512-4
- Ozcan T, Eroglu E. 2022. Effect of stevia and inulin interactions on fermentation profile and short-chain fatty acid production of *Lactobacillus acidophilus* in milk and *in vitro* systems", *International Journal of Dairy Technology*, 75 (1): 171-181. doi: 10.1111/1471-0307.12814
- Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12): 7577-7587. doi: 10.1007/2Fs13197-015-1921-1
- Pankiewicz U, Góral M, Kozłowicz K, Góral D. 2020. Application of pulsed electric field in production of ice cream enriched with probiotic bacteria (*L. rhamnosus B 442*) containing intracellular calcium ions. *Journal of Food Engineering*, 275: 109876. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109876
- Parmar P, Singh AK, Meena GS, Borad S, Raju PN. 2018. Application of ohmic heating for concentration of milk. *Journal of Food Science and Technology*, 55(12): 4956-4963. doi: 10.1007/2Fs13197-018-3431-4
- Parvarei M, Fazeli MR, Mortazavian AM, Sarem Nezhad S, Mortazavi SA, Golabchifar AA, Khorshidian N. 2021. Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt. *Food Research International*, 140: 110030. doi: 10.1016/j.foodres.2020.110030
- Peng M, Tabashum Z, Anderson M, Truong A, Houser AK, Padilla J, Akmel A, Bhatti J, Rahaman SO, Biswas D. 2020. Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19: 1908-1933. doi: 10.1111/1541-4337.12565
- Pereira MO, Guimarães JT, Ramos GLPA, Prado-Silva L, Nascimento JS, Sant'Ana AS, Cruz, AG. 2020. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* in whey dairy beverage processed with ohmic heating. *LWT-Food Science and Technology*, 127: 109420. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109420
- Pérez-Sánchez T, Mora-Sánchez B, Vargas A, Balcázar JL. 2020. Changes in intestinal microbiota and disease resistance following dietary postbiotic supplementation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Microbial Pathogenesis*, 142: 104060. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104060
- Phan KTK, Phan HT, Brennan CS, Phimolsiripol Y. 2017. Non-thermal plasma for pesticide and microbial elimination on fruits and vegetables: An overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(10): 2127-2137. doi: 10.1111/ijfs.13509
- Pires R, Guimarães JT, Barros CP, Balthazar CF, Chinchá A, Freitas MQ, Duarte M, Silva P, Pimentel TC, Abud Y, Sant'Ana C, Sant'Ana AS, Silva MC, Priyadarshini A, Rajauria G. 2019. Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19): 3082-3101. doi: 10.1080/10408398.2018.1483890
- Priyadarshini A, Rajauria G, O'Donnell CP, Tiwari BK. 2019. Emerging Food Processing Technologies and Factors Impacting their Industrial Adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19), 3082-3101. doi: 10.1080/10408398.2018.1483890
- Racioppo A, Corbo MR, Piccoli C, Sinigaglia M, Speranza B, Bevilacqua A. 2017. Ultrasound attenuation of lactobacilli and bifidobacteria: Effect on some technological and probiotic properties. *International Journal of Food Microbiology*, 243: 78-83. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.011
- Ribeiro K, Coutinho NM, Silveira MR, Rocha RS, Arruda HS, Pastore GM, Neto R, Tavares M, Pimentel TC, Silva P, Freitas MQ, Esmerino EA, Silva MC, Duarte M, Cruz AG. 2021. Impact of cold plasma on the techno-functional and sensory properties of whey dairy beverage added with xylooligosaccharide. *Food Research International*, 142: 110232. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110232
- Rocha RS, Silva R, Guimarães JT, Balhazar CF, Silveira MR, Martins AA, Rojas VP, Graça JS, Pimentel TC, Esmerino EA, Sant'An AS, Granato D, Freitas MQ, Barros ME, Silva MC, Cruz AG. 2020. Ohmic heating does not influence the biochemical properties of Minas Frescal cheese but decreases uric acid levels in healthy Wistar rats. *Journal of Dairy Science*, 103: 4929-4934. doi: 10.3168/jds.2019-17712
- Rodrigues RQ, Dalmás M, Chemello Muller D, Dambróz Escobar D, Campani Pizzato A, Mercali GD, Tondo EC. 2017. Evaluation of non-thermal effects of electricity on inactivation kinetics of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* during ohmic heating of infant formula. *Journal of Food Safety*, 38(1): e12372. doi: 10.1111/jfs.12372
- Saarela MH. 2019. Safety aspects of next generation probiotics. *Current Opinion in Food Science*, 30: 8-13. doi: 10.1016/j.cofs.2018.09.001
- Salari S, Jafari SM. 2020. The influence of ohmic heating on degradation of food bioactive ingredients. *Food Engineering Reviews*, 12(2): 191-208. doi: 10.1007/s12393-020-09217-0
- Silva EK, Guimarães JT, Costa ALR, Cruz AG, Meireles MAA. 2019a. Non-thermal processing of inulin-enriched soursoop whey beverage using supercritical carbon dioxide technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 154: 104635. doi: 10.1016/j.supflu.2019.104635
- Silva EK, Arruda HS, Eberlin MN, Pastore GM, Meireles MAA. 2019b. Effects of supercritical carbon dioxide and thermal treatment on the inulin chemical stability and functional properties of prebiotic-enriched apple juice. *Food Research International*, 125: 108561. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108561

- Silva EK, Meireles MAA, Saldaña MDA. 2020. Supercritical carbon dioxide technology: A promising technique for the nonthermal processing of freshly fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology*, 97: 381-390. doi: 10.1016/j.tifs.2020.01.025
- Silva AB, Scudini H, Ramos G, Pires R, Guimarães JT, Balthazar CF, Rocha RS, Margalho LP, Pimentel TC, Siva MC, Sant'Ana AS, Esmerino EA, Freitas MQ, Duarte M, Cruz AG. 2021. Ohmic heating processing of milk for probiotic fermented milk production: Survival kinetics of *Listeria monocytogenes* as contaminant post-fermentation, bioactive compounds retention and sensory acceptance. *International Journal of Food Microbiology*, 348: 109204. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109204
- Sliwska K, Chlebicz-Wójcik A. 2020. Growth kinetics of probiotic *Lactobacillus* strains in the alternative, cost-efficient semi-solid fermentation medium. *Biology*, 9(12): 423. doi: 10.3390/biology9120423
- Soltani Firouz M, Farahmandi A, Hosseinpour S. 2019. Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57: 73-88. doi: 10.1016/j.ultsonch.2019.05.014
- Tabanelli G, Patrignani F, Vinderola G, Reinheimer JA, Gardini F, Lanciotti R. 2013. Effect of sub-lethal high pressure homogenization treatments on the in vitro functional and biological properties of lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, 53(2): 580-586. doi: 10.1016/j.lwt.2013.03.013
- Temelli F, Saldaña MDA, Comin L. 2012. Application of supercritical fluid extraction in food processing. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. Washington: Elsevier, 4: 415-40. doi: 10.1016/B978-0-12-381373-2.00142-3
- Tinoco A, Rodrigues RM, Machado R, Pereira RN, CavacoPaulo A, Ribeiro A. 2020. Ohmic heating as an innovative approach for the production of keratin films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150: 671-680. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.122
- Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Tsigalou C, Dalamaga M. 2020. Probiotics, prebiotics, synbiotics, postbiotics, and obesity: Current evidence, controversies, and perspectives. *Current Obesity Reports*, 9(3): 179-192. doi: 10.1007/s13679-020-00379-w
- Van Loey IA, Smout C, Hendrickx M. 2003. High hydrostatic pressure technology in food preservation. Zeuthen P, Bogh-Sorensen L, editors. *Food Preservation Techniques*. 428-48. doi: 10.1016/B978-1-85573-530-9.50023-1
- Varghese KS, Pandey MC, Radhakrishna K, Bawa AS. 2014. Technology, applications and modelling of ohmic heating: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10): 2304-2317. doi: 10.1007/s13197-012-0710-3
- Vorobiev E, Lebovka N. 2019. Pulsed electric field in green processing and preservation of food products. *Green Food Processing Techniques*. France: Elsevier, 403-30. doi: 10.1007/978-3-030-70586-2
- Wang T, Chen H, Yu C, Xie X. 2019. Rapid determination of the electroporation threshold for bacteria inactivation using a lab on-a-chip platform. *Environment International*, 132: 105040. doi: 10.1016/j.envint.2019.105040
- Xu H, Zhu Y, Du M, Wang Y, Ju S, Ma R, Jiao Z. 2021. Subcellular mechanism of microbial inactivation during water disinfection by cold atmospheric-pressure plasma. *Water Research*, 188: 116513. doi: 10.1016/j.watres.2020.116513
- Zhang ZH, Wang LH, Zeng XA, Han Z, Brennan CS. 2019. Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(1): 1-13. doi: 10.1111/ijfs.13903