

# Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu

## Microencapsulation of probiotic bacteria

Harun URAN, Hatice ŞANLIDERE ALOĞLU, Bayram ÇETİN

Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayalı Yerleşkesi, 39000, Kırklareli

Sorumlu yazar (*Corresponding author*): H. Uran, e-posta (*e-mail*): harunuran@klu.edu.tr

### MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 02 Şubat 2016  
Düzeltilme tarihi 27 Haziran 2016  
Kabul tarihi 02 Mayıs 2017

#### Anahtar Kelimeler:

Probiyotik bakteriler  
Mikroenkapsülasyon  
Mikroenkapsülasyon teknikleri

### ÖZ

Probiyotik özellikteki bakterilerin ve probiyotik bazlı ürünlerin sağlığa pek çok yararları bulunmaktadır. Bu nedenle probiyotik katkılı ürünlerin üretimi üzerine çalışmalar artarak devam etmektedir. Ancak bu özellikteki bakteriler, gıdaların üretimi ve işlenmesi ile sindirim sisteminde canlılıklarını önemli ölçüde kaybetmektedirler. Bu bakterilerin fiziksel bir bariyer içinde saklanarak gıdalara ilave edilmesi, canlılıklarının sindirim sisteminde devam etmesine katkı sağlayabilmektedir. Bu amaçla geliştirilmiş mikroenkapsülasyon yöntemi, çekirdek materyalin bir polimerik malzeme ile kaplanarak 1 ile 1000 µm boyutlarında mikrokürelerin oluşmasını sağlamaktadır. Bu çok kapsamlı teknoloji, ilaçlardan aroma maddelerine kadar çok geniş bir ürün yelpazesinin kapsüllemesi için kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda bu teknik sahip olduğu pek çok avantajından ötürü canlı hücrelerin enkapsülasyonunu için de yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu derlemede, probiyotik özellikteki bakterilerin mikroenkapsülasyonu ve bu bağlamda kullanılan mikroenkapsülasyon teknikleri hakkında bilgiler verilmeye çalışılmıştır.

### ARTICLE INFO

Received 02 February 2016  
Received in revised form 27 June 2016  
Accepted 02 May 2017

#### Keywords:

Probiotic bacteria  
Microencapsulation  
Microencapsulation techniques

### ABSTRACT

Probiotic bacteria and probiotic-based products have many benefits to health. Therefore, works on the production of probiotic-added products continues increasingly. However, these bacteria lose their vitality in food production and processing and in the digestive system significantly. The addition of these bacteria to the stored with a physical barrier into foods can contribute to the continuing vitality of them in the digestive system. Microencapsulation method developed for this purpose and involves coating or entrapping of a core material with a polymeric material to generate microspheres in the size range of 1–1000 µm. This versatile technology has been used to encapsulate a wide variety of products from pharmaceuticals to flavors. Especially in recent years, this technology has widely preferred for the encapsulation of living cells because of many advantages. In this review, it has tried to provide information about microencapsulation of the probiotic bacteria and the techniques used in this method.

## 1. Giriş

Probiyotikler, yeterli sayıda alındıklarında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır (Krasaekoopt ve ark. 2006; Vuyst ve ark. 2008; Ünal ve Erginkaya 2010; Ergin ve ark. 2015). Probiyotiklerin bağırsak mikroflorasını patojenlere karşı koruma, bağışıklık sistemini güçlendirme, serum kolesterol seviyesini ve kan basıncını düşürme, antikarsinogenik etki gösterme, besin maddelerinden faydalanma ve gıdaların besin değerinin artması gibi çok sayıda sağlığa faydası bulunmaktadır (Akan ve Kınık 2015).

Sağlık üzerine pek çok olumlu etkisi bulunmasından dolayı probiyotiklere olan talep hızla artmaktadır. Artan talep üreticilerin iştahını kabartmış ve kesin olmayan bilgilerle ürünlerini probiyotik gibi gösterip insanları yanıltarak kargaşa meydana getirmiştir. Bu durum bazı ülkelerin ve kuruluşların tüketiciyi koruma amaçlı yasal düzenlemeler getirmesine neden

olmuştur. Günümüzde gerek FAO/WHO ortak uzmanlar danışma grubu, gerekse Avrupa Birliği Ülkeleri için gıda güvenliğinden sorumlu Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından probiyotik ürünlere ilişkin tanımlama ve üretim prosedürleri oluşturulmuştur (Ergin ve ark. 2015).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilebilmesi için bağırsaklarda kolonize olması, midenin asitli ortamını geçerek canlı kalması, safra asitlerine dayanıklı olması, canlılığını ve metabolik aktivitesini bağırsaklarda da devam ettirmesi, patojen ve toksik olmaması, konakçıya fayda sağlaması gerekmektedir (Erem ve ark. 2013). Yine probiyotik mikroorganizmaların beklenen faydalı etkiyi sağlayabilmeleri için  $10^8$  kob ml<sup>-1</sup> veya daha fazla sayıda vücuda alınmaları ve içinde buldukları gıdaların üretimi ve raf ömrü süresince canlı kalabilmeleri gerekmektedir (Çakır

2006). *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantice* ve *B. lactis* probiyotik gıdalarda yoğun olarak kullanılan probiyotik bakterilerdir (Mortazavian ve ark. 2007).

Probiyotik mikroorganizmaların canlılığının ve stabilitesinin korunması, birçok üründe, gerek işleme sırasında, gerekse depolama ve satış aşamalarında önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizmalarda, ürüne özgü türler olma özelliklerinin yanı sıra, ürünün raf ömrü boyunca canlılıklarını koruyabilme özellikleri de aranmaktadır (Ünal ve Erginkaya 2010).

Probiyotik gıda üretimini kısıtlayan en önemli etken, kullanılan mikroorganizmaların stabilitesini, yani canlılığını koruyamamasıdır. Son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda mikroenkapsülasyon (ME) tekniğinin, probiyotiklerin teknolojik özelliklerinin artırılmasında kullanılan yeni yöntemlerden biri olduğu bildirilmiştir (Ünal ve Erginkaya 2010).

Mikroenkapsülasyon; katı, sıvı veya gaz halindeki gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücre ve diğer maddelerin, protein veya karbonhidrat esaslı minyatür kapsüller içerisinde tutulması olarak tanımlanmaktadır. ME yönteminde, hücreler kapsül veya kaplama maddesi olarak da adlandırılan yarı geçirgen membran içerisinde tutulurlar. Bu yöntemde hücreler 0.45 µm'den daha küçük gözenekleri olan 5-300 µm çapındaki kaplama maddesinin içerisinde tutulur. ME işlemindeki ilk basamak, uygun kaplama maddesinin seçilmesidir. Kaplama maddeleri, film oluşturabilen, şekerler, gıamlar, proteinler, doğal ve modifiye polisakkaritler, yağlar veya sentetik polimerlerdir (Dubey ve ark. 2009; Ünal ve Erginkaya 2010). ME işlemi, gıda, tarım, ilaç, enerji ve savunma gibi alanlarda kullanılmaktadır (Dubey ve ark. 2009). Gıda endüstrisinde 60 yılı aşkın bir süredir kullanılmakta olan mikroenkapsülasyonun gıda uygulaması üzerindeki araştırmaları uzun yıllardır sürmesine rağmen sanayi boyutunda üretim ve tüketimi, gelişen teknoloji ve tüketici bilincinin artmasına bağlı olarak hız kazanmıştır (Altun ve Özcan 2013). Özellikle son yıllarda fonksiyonel gıdaların öneminin giderek artması sonucunda mikroenkapsülasyon işlemi gıda sektörü için daha çok anlam kazanmıştır (Koç ve ark. 2010).

Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonun amacı ise; gıdaların öğütme gibi mekanik olarak işlenmesi ve sindirimi esnasında mide suyuna maruz kalması gibi zorlu ortamlarda probiyotiklerin mikrokapsüllerden kontrollü salınımına izin vererek canlılıklarının muhafazasının sağlanmasıdır (Chen ve Mustapha 2012). Mikroenkapsülasyon tekniğinin diğer avantajı, bakteri hücrelerini bakteriyofaj saldırısına karşı koruması, dondurarak kurutma, dondurma vb. gibi işlemlere karşı hücrenin zarar görmesini engellemesi ve depolama süresi boyunca yüksek stabilite sağlamasıdır (Kabak ve Var 2005). Bu yöntemde aktif mikroorganizma çevresinde çeşitli maddelerle koruyucu bir film veya kaplama tabakası oluşturulmaktadır. Bu teknik, immobilize kültür teknolojilerinden hareketle geliştirilmiştir. Mikroorganizma kaplamada püskürtmek kurutma, ekstrüzyon, emülsiyon ve faz ayrımı gibi çeşitli yöntemler, birlikte veya ayrı ayrı kullanılabilir. Kalsiyum-aljinat jel kapsülü oluşumu esasına dayalı bir işlem, günümüzde en çok araştırılan mikroenkapsülasyon tekniğidir. Bunun dışında jelatin, pektin, nişasta, kappa-karreganin, gellan gum, aljinat, peyniraltı suyu gibi gıdaların bileşiminde güvenle kullanılabilen maddeler de kaplama materyali olarak kullanılabilir (Çakır 2006).

## 2. Probiyotik Bakterilerin Mikroenkapsülasyonunda Kullanılan Yöntemler

Probiyotikleri içeren mikrokapsüllerin üretiminde temel olarak 3 yöntem kullanılır. Bunlar; ekstrüzyon, emülsiyon ve püskürtmek kurutma (sprey kurutma)'dır. Çalışmalarda ise en çok ekstrüzyon ve emülsiyon teknolojilerinin kullanıldığı bildirilmektedir (Cook ve ark. 2012).

Ekstrüzyon, hidrokolloitlerin kaplama materyali olarak kullanıldığı en eski ve en yaygın mikroenkapsülasyon yöntemidir. Yöntem basit haliyle hidrokolloit solüsyonunun hazırlanmasını, mikroorganizmaların bu solüsyon içine katılmasını ve hücrenin ekstrüzyon şeklinde bir sırınga başlığı ile boncuklar halinde düşerek sertleşmesini kapsar. Boncuk büyüklüğü ve şekli sırasıyla iğne başlığının çapı ve serbest düşme mesafesine bağlıdır. Bu yöntem kolaylık, basitlik, düşük maliyet ve hücrelerin uzun süre canlılığını sağlayan makul formülasyon şartları nedeniyle en popüler yöntemdir. Ekstrüzyon tekniğinde destekleyici materyal olarak genellikle aljinat kullanılmaktadır (Krasaekoopt ve ark. 2003).

Emülsiyon tekniğinde, hücre polimer süspansiyonunun küçük bir hacmi (kesikli faz), daha geniş hacimli soya fasülyesi yağı, ayçiçeği yağı, kanola veya mısır yağı gibi bir bitkisel yağ (sürekli faz) içerisine eklenir. Karışım, yağ içerisinde su emülsiyonu oluşturulmak üzere homojenize edilir. Yağ içerisinde su emülsiyonu oluşturulduktan sonra, suda çözünen polimerin yağ fazı içinde küçük jel parçacıkları oluşturması için çözünmemesi gerekir. Emülsiyonda küçük bir iç faz parçacık boyutunun oluşması, daha küçük nihai mikrotanecikler meydana getirecektir. Bu yöntemin seçimi, desteklemede kullanılacak materyalin türüne bağlıdır. Boncuklar daha sonra süzülerek elde edilir. Boncuk büyüklüğü çalkalama hızı ile kontrol edilir ve 25 µm ile 2 mm arasında değişebilir. Bu yöntem, laktik asit bakterilerinin kesikli ve sürekli enkapsülasyonlarında başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Emülsiyon tekniği ile kullanılan pek çok destekleme materyali bulunmaktadır. Bunlar içerisinde en çok kullanılanları kappa-karreganin ve keçi boynuzu gamı karışımı, selüloz asetat fitalat, aljinat, kitosan ve jelatindir (Krasaekoopt ve ark. 2003).

Diğer bir yöntem olan spre kurutma ise, probiyotiklerin mikroenkapsülasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır ve bir polimerik çözelti içerisindeki mikrobiyal hücre süspansiyonunun sıcak kuru hava içerisine atomizasyonunu kapsar, bu durumu suyun hızlı bir şekilde evaporasyonu takip eder. Mikrokapsüle edilmiş ürün daha sonra, bir siklon içerisinde taşıyıcı havadan kuru bir toz olarak ayrılır. Bu yöntemde ürün besleme oranı, hava akımı, besleme sıcaklığı, giriş ve çıkış hava sıcaklıkları gibi çeşitli spre kurutma şartlarının iyi forma sahip mikrokürelerin üretimi için optimize edilmesi gerekmektedir. Giriş hava sıcaklığının doğru bir şekilde ayarlanması, düşük hava sıcaklığının suyun evaporasyon oranını azaltmasından dolayı önemlidir. Aşırı yüksek hava sıcaklığı ise, mikrokürelerin yüksek yoğunluklu membranlara ve düşük akış özelliklerine sahip olmasına neden olarak hücrelerin canlılığını olumsuz etkilemektedir. Buna ek olarak besleme sıcaklık ayarı polimer solüsyonunun viskozitesini modifiye etmek için önemlidir. Diğer geleneksel teknikler ile karşılaştırıldığında spre kurutma, mikrokürelerin nispeten basit bir sürekli sistem içerisinde oluşmasını önemli bir avantaj olarak sunmaktadır. Bununla birlikte, büyük ölçekte uygulandığında yüksek kurulum ve işletme maliyetleri yanı sıra hatırı sayılır alanı ve ekipman gerekliliği sürecin önemli zorlukları olarak göze çarpmaktadır. Enkapsülasyon için

kullanılabilen polimer aralığı da sınırlıdır (Rathore ve ark. 2013).

Sprey kurutma esnasında mikrobiyal hücrelerin yüksek sıcaklığa maruz kalmalarından dolayı zarar görmeleri sorununu aşmak için sprej soğutma yöntemi tasarlanmıştır. Bu işlem sprej kurutma için kullanılan ekipmanlara benzer sistemlerde yapılmaktadır, farklı olarak sıcak hava yerine soğuk taşıyıcı hava ya da soğuk bölme kullanılmaktadır (Rathore ve ark. 2013).

Sprej kurutma aynı zamanda sprej dondurarak kurutma şeklinde de yapılmaktadır. Sprej dondurarak kurutma yöntemi, dondurarak kurutma ve sprej kurutmadaki ortak işlem basamaklarının kombinasyonu şeklinde tasarlanmıştır. Bu yöntemde probiyotik hücreler, sıvı azot gibi bir kriyojenik sıvının soğuk buhar fazına atomize edilen bir çözelti içinde bulunmaktadır. Bu aşama, donmuş damlacıkların bir dispersiyonunu oluşturur. Dondurulmuş damlacıklar daha sonra bir dondurarak kurutucu içinde kurutulur. Bu teknik püskürterek (sprej) kurutma yöntemine kıyasla, daha kontrollü bir boyut ve spesifik yüzey alanına sahip kapsüllerin oluşumunun sağlanması gibi çeşitli avantajlar sunar. Ayrıca kapsüller elverişsiz çevre koşullarına karşı korunmak amacıyla bir ilave kabuk ile de kaplanabilir. Bununla birlikte bu işlemin yüksek enerji kullanımı, uzun işlem süresi ve püskürterek kurutmaya göre 30-50 kat daha pahalı olması gibi bazı dezavantajları vardır (Martin ve ark. 2015). Probiyotik bakterilerin çeşitli teknikler kullanılarak enkapsülasyonu üzerine yapılmış bazı araştırmalar Çizelge 1’de verilmiştir.

### 3. Probiyotik Bakterilerin Mikroenkapsülasyonu Üzerine Yapılan Çalışmalar

Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu üzerine çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Enkapsüle edilecek mikroorganizma çeşidine göre farklı kaplama materyalleri kullanılmıştır. Ancak özellikle aljinat, çeşitli gumlar, kitosan ve nişasta gibi kaplama materyallerinin ağırlıklı olarak kullanıldığı görülmektedir (Krasaekoopt ve ark. 2003; Gbassi ve ark. 2009; Mirzaei ve ark. 2012; Rosas-Flores ve ark. 2013; Krasaekoopt ve Watcharapoka 2014; Kamalian ve ark. 2014; Fareez ve ark. 2015; Haghshenas ve ark. 2015; Shaharuddin ve Muhamad 2015; Etchepare ve ark. 2016a; Etchepare ve ark. 2016b).

Krasaekoopt ve ark. (2004), *L. acidophilus*, *B. bifidum* ve *L. casei* probiyotik bakterilerini kalsiyum aljinat damlaları ile enkapsüle etmiş ve aynı damlaları daha sonra 3 tip farklı materyal ile (kitosan, sodyum aljinat ve aljinat-polilisın kombinasyonu) tekrar kaplamıştır. Sonradan uygulanan kaplama materyallerinin, ilk kapsüllerin sıklığını artırdığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca kaplanan bakterileri çeşitli özellikler yönünden ve mide özsuyunda canlılık düzeyleri bakımından da incelemişler ve enkapsüle edildikten sonra kaplanan *B. bifidum*’un mide özsuyunun asidik ortamında canlı kalamadığını bildirmişlerdir.

Sultana ve ark. (2000) *B. bifidum* ve *L. acidophilus* cinsi probiyotik bakterileri mısır nişastasası ve aljinat ile ayrı ayrı enkapsüle etmişler ve bu probiyotik bakterileri yapay sindirim

**Çizelge 1.** Probiyotik bakterilerin enkapsülasyonu üzerine yapılmış bazı çalışmalar.

**Table 1.** Some studies on the encapsulation of probiotic bacteria.

Bakteriler	Enkapsülasyonda kullanılan materyaller	Mikroenkapsülasyon tekniği	Denendiği ürün(ler)	Referans
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 5, <i>Lactobacillus casei</i> 01	İnülin, galaktooligosakkarit, aljinat, kitosan	Ekstrüzyon	Yoğurt, meyve suyu	Krasaekoopt ve Watcharapoka (2014)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La5	Kalsiyum aljinat	Ekstrüzyon	İran salamura peyniri	Mirzaei ve ark. (2012)
<i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kuersetin, aljinat, kitosan	Ekstrüzyon	-	Chavari ve ark. (2010)
<i>Lactobacillus reuteri</i> DPC16	Aljinat, CaCl <sub>2</sub>	Ekstrüzyon	-	Zhao ve ark. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Ağaç zıncığı, maltodekstrin, gam Arabic	Emülsiyon	Oaxaca peyniri	Rodriguez-Huezo ve ark. (2014)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CGMCC1.2686	Aljinat, Ca-EDTA, CaCO <sub>3</sub>	Emülsiyon	-	Cai ve ark. (2014)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>	Aljinat, jellan gam	Emülsiyon	-	Rosas-Flores ve ark. (2013)
<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Palm ve kernel yağı	Dondurarak kurutma	-	Pedroso ve ark. (2012)
Laktik asit bakterileri	Akasya gam	Sprej kurutma	Pişmiş et ezmesi	Perez-Chabela ve ark. (2013)
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	Yağsız süt, inülin, oligofruktoz, oligofruktoz ile zenginleştirilmiş inülin	Sprej kurutma	-	Fritzen-Freire ve ark. (2012)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NRRLB-4495, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> NRRLB-442	Maltodekstrin	Sprej kurutma	Ahududu suyu	Anekella ve Orsat (2013)

sistemi ve yoğurt içerisindeki yaşamsal faaliyetlerini incelemişlerdir. Çalışmada gliserol ve aljinat karışımının -20 °C'de bakterilerin yaşayabilme kabiliyetlerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte yoğurtta 8 haftalık periyotta enkapsüle edilmiş bakterilerin sayısında 0.5 log'luk bir azalma gözlenirken, enkapsüle edilmeden katılmış bakteri kültüründe 1 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir.

Picot ve Lacroix (2004), yoğurt örneği içerisinde 28 günlük depolama süresince peyniraltı suyu proteinleri kullanılarak enkapsülasyon işlemine tabi tuttukları *B. breve* R070'in, kaplanmadan kullanılan mikroorganizmalara göre canlılığını 2.6 log daha fazla koruduğu belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada *L. acidophilus* bakterisi mikroenkapsüle edilerek pıhtısı parçalanmış yoğurt üretiminde kullanılmış ve 35 gün boyunca buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen probiyotik yoğurtların fizikokimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Araştırmada enkapsüle edilmiş bakterilerin 35 günlük depolama periyodunda enkapsüle edilmeden ilave edilen kültüre göre daha az asitlenme gösterdiği ve canlılık durumunun enkapsüle edilmiş kültürde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte enkapsüle edilmiş bakteri ilave edilen yoğurtların görünüş, tat, aroma ve genel kabul edilebilirlik durumlarında kayda değer değişim gözlenmemiştir (Ribeiro ve ark. 2014).

Cai ve ark. (2014), *L. acidophilus* bakterisini aljinat ile birlikte kalsiyum kaynağı olarak kalsiyum karbonat ve Ca-EDTA kullanarak ayrı ayrı enkapsüle etmiş ve çeşitli özellikleri bakımından incelemişlerdir. İki tip mikroenkapsülasyonun fiziksel özellikleri, aljinat ve Ca-EDTA ile enkapsüle edilmiş bakterilerin aljinat-CaCO<sub>3</sub> ile enkapsüle edilen bakterilere göre daha üniform bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Ancak mekaniksel ölçümler, aljinat-CaCO<sub>3</sub> ile enkapsülasyonun daha sağlam ve esnek bir yapı meydana getirdiğini göstermiştir.

Mikroenkapsülasyon materyali olarak zein ve aljinatın kullanıldığı ve bu materyale belirli düzeylerde sitrik asit eklenerek farklı kaplama materyalleri ile çalışılan bir çalışmada, bu materyaller ile kaplanan *L. acidophilus* probiyotik bakterisinin sindirim sistemindeki canlı kalabilme durumu incelenmiştir. Araştırma sonuçları, kaplama materyalindeki sitrik asit konsantrasyon artışının mikroenkapsül boyutu üzerine etkili olmadığını, bununla birlikte zein asitliğindeki artış nedeniyle bakterilerin canlılık düzeylerinde önemli oranda azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Laelorspoen ve ark. 2014).

Probiyotik mikroorganizmaların probiyotik özellikteki materyaller ile birlikte enkapsüle edildiği araştırmalar da son zamanlarda giderek önem kazanmaya başlamıştır. Chavarri ve ark. (2010), probiyotik ve probiyotiklerin kalsiyum aljinat damlaları içerisinde enkapsülasyonunu geliştirmek üzere kitosan kaplama malzemesi olarak kullanmışlardır. Kitosan kaplı aljinat mikroküreleri probiyotiklerden *L. gasseri* ve *B. bifidum*'un, probiyotik olarak kuersetin ile birlikte enkapsülasyonu için üretilmiş ve probiyotikler gastrointestinal sistemin olumsuz koşullarına maruz bırakılmıştır. Kitosan kaplı aljinat kürelerinin kuersetin ile birlikte enkapsülasyon verimleri, canlı hücreler için düşük bulunmuştur. Bu sonuçlarla birlikte +4°C'de depolama esnasında kuersetinli kürelerin yaşam durumlarına ilişkin veriler, kuersetin ile birlikte mikroenkapsüle edilen probiyotik bakterilerin yaşamadığını göstermiştir. Bu nedenle kuersetin ve *L. gasseri* veya *B. bifidum* ayrı olarak mikroenkapsüle edilmiştir. Sonuç olarak *L. gasseri* ve *B. bifidum*'un kitosan kaplama ve aljinat ile birlikte

mikroenkapsülasyonunun, bu probiyotik bakterilerin yapay mide ve bağırsak öz suyunda canlılıklarının devamı için daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Fritzen-Freire ve ark. (2012) *Bifidobacterium* BB-12 cinsi probiyotik bakteriyi, prebiyotik özellikteki materyaller (inülin, oligofruktoz ve oligofruktoz-inülin karışımı) ile püskürtmeli kurutma yaparak enkapsüle etmişlerdir. Araştırmada mikroenkapsüllerin canlı hücre sayıları +4 °C ve -18 °C depolamada 180 gün boyunca belirlenmiştir. Yine mikroenkapsüllerin depolama süresi boyunca partikül boyutu, nem içeriği, morfolojisi, su aktivitesi, çözünme, nem çekme, renk ve termal özellikleri gibi fiziksel özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada üretilen bütün mikroenkapsüllerin depolama sırasında yüksek hayatta kalma oranı gösterdiği değerlendirilmiştir. İnülin ilave edilmiş mikroenkapsüllerin yüksek başlangıç sayıları gösterdiği gözlemlenmiştir. Tüm mikroenkapsüller 14.45 ve 18.78 µm arasında değişimle birlikte benzer morfoloji ve partikül boyutlarını göstermiştir. Prebiyotiklerdeki kısmi değişimin mikroenkapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Krasaeekoopt ve Watcharapoka (2014), prebiyotik özellikteki inülin ve galaktooligosakkarit (GOS) kullanarak probiyotik bakterileri (*L. casei* ve *L. acidophilus*) sodyum aljinat boncukları içerisine enkapsüle etmiş ve daha sonra bu mikroenkapsülleri kitosan ile kaplamışlardır. Daha sonra bu mikroenkapsülleri yapay sindirim sisteminde, yoğurt ve meyve suyu üretiminde kullanarak izlemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre prebiyotik ilavesi oluşan mikroenkapsül boyutunu % 3.8 oranında arttırmıştır. Mikroenkapsüllerde % 0.3 oranında GOS ilavesinin iyi koruma sağladığı belirlenmiştir. Yoğurtta 4 haftalık depolama periyodu içerisinde GOS ilaveli mikroenkapsüllerdeki canlı hücrelerin, ilavesiz mikroenkapsüllerdeki hücrelere göre daha fazla sayıda olduğu gözlemlenmiştir.

Rajam ve Anandharamkrishnan (2015) ise probiyotik bakteri olan *L. plantarum*'u prebiyotik özelliğe sahip olan fruktooligosakkarit (FOS) ile püskürtmeli kurutma metodu uygulayarak enkapsüle etmişlerdir. Mikroenkapsülasyonda oluşan sıkı yapıyı azaltmak için FOS ile birlikte peyniraltı suyu proteini ve denatüre peyniraltı suyu protein izolatlarını değişik kombinasyonlar uygulayarak kullanmışlardır. Daha sonra oluşan mikroenkapsülleri değişik özellikler bakımından ve mide ile sindirim sistemindeki yaşamsal faaliyetlerini baz alarak incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre 1:1 oranında uygulanan FOS-denatüre peyniraltı suyu izolatu karışımının en yüksek enkapsülasyon etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı karışımın 1:1.5 oranında uygulanması diğer mikroenkapsüllere göre daha iyi depolama stabilitesi ve mide ile sindirim sisteminde daha etkili koruma meydana getirmiştir.

#### 4. Sonuç ve Öneriler

Uzun yıllardan beri kimya, ziraat, tıp, eczacılık, veterinerlik ve biyoteknoloji gibi birçok alanda geniş uygulama alanı bulmuş olan enkapsülasyon teknikleri son yıllarda gıda endüstrisinde kullanılmaya başlamıştır. Toplum sağlığı açısından önemli olan probiyotik suşların üretimi, muhafazası, taşıyıcı gıdanın işlenmesi ve sindirim sisteminde canlılığını koruması bakımından mikroenkapsülasyon tekniğinin önemli avantajları bulunmaktadır. Ayrıca mikroenkapsülasyon tekniğinin uygulanmasının büyük yatırımlar gerektirmediği bildirilmektedir.



Yapılan araştırmalardan görüldüğü gibi kullanılan mikroenkapsülasyon yöntemi ve kaplama materyali enkapsüle edilen probiyotiklerin stabilitesini, salınımını ve canlılık düzeyini etkilemektedir. Son yıllarda probiyotik bakterilerin gelişimini teşvik eden prebiyotiklerin kaplama materyali olarak kullanılması ile ilgili çalışmaların sayısı artmaktadır. Prebiyotiklerin kaplama materyali olarak kullanılmasının probiyotiklerin kullanıldığı üründe veya tüketildikten sonra sindirim sisteminde canlılığını teşvik edeceği düşünüldüğünde, özellikle bu konuda araştırmaların yapılmasının oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır.

## Kaynaklar

- Akan E, Kınık Ö (2015) Gıda üretimi ve depolanması sırasında probiyotiklerin canlılıklarını etkileyen faktörler. CBÜ Fen Bilimleri Dergisi, 11(2): 155-166.
- Altun B, Özcan T (2013) Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu II: Kaplama materyalleri ve süt ürünlerinde uygulamalar. U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(2): 105-114.
- Anekella K, Orsat V (2013) Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. LWT-Food Science and Technology 50: 17-24.
- Cai S, Zhao M, Fang Y, Nishinari K, Phillips GO, Jiang F (2014) Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686 Via emulsification/internal gelation of alginate using Ca-EDTA and CaCO<sub>3</sub> as calcium sources. Food Hydrocolloids 39: 295-300.
- Çakır İ (2006) Mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik gıda üretiminde kullanımı. 9. Gıda Kongresi Bolu, s. 693-696.
- Chavarri M, Maranon I, Ares R, Ibanez FC, Marzo F, Villaran MDC (2010) Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. International Journal of Food Microbiology 142: 185-189.
- Chen M, Mustapha A (2012) Survival of freeze-dried microcapsules of a-galactosidase producing probiotics in a soy bar matrix. Food Microbiology 30: 68-73.
- Cook MT, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy VV (2012) Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. Journal of Controlled Release 162: 56-67.
- Dubey R, Shami TC, Rao BKU (2009) Microencapsulation technology and applications. Journal of Defence Science 59(1): 82-95.
- Etchepare MDA, Raddatz GC, Cichoski AJ, Flores EMM, Barin JS, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Grosso CRF, De Menezes CR (2016a) Effect of resistant starch (hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. Journal of Functional Foods 21: 321-329.
- Etchepare MDA, Raddatz GC, Flores EMM, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Barin JS, Grosso CRF, De Menezes CR (2016b) Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. LWT-Food Science and Technology 65: 511-517.
- Erem F, Küçükçetin A, Certel M (2013) *Bacillus* türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmesi. Gıda, 38(4): 247-254.
- Ergin F, Göçer EMÇ, Arslan AA, Küçükçetin A (2015) Probiyotikler ile ilgili yasal düzenlemeler. Akademik Gıda, 13(3): 229-236.
- Fareez IM, Lim SM, Mishra RK, Ramasamy K (2015) Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* lab12. International Journal of Biological Macromolecules 72: 1419-1428.
- Fritzen-Freire CB, Prudencio ES, Amboni RDMC, Pinto SS, Murakami ANN, Murakami FS (2012) Microencapsulation of *Bifidobacteria* by spray drying in the presence of prebiotics. Food Research International 45: 306-312.
- Gbassi GK, Vandamme T, Ennahar S, Marchioni E (2009) Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. International Journal of Food Microbiology 129: 103-105.
- Haghshenas B, Nami Y, Haghshenas M, Barzegari A, Sharifi S, Radiah D, Rosli R, Abdullah N (2015) Effect of addition of inulin and fenugreek on the survival of microencapsulated *Enterococcus durans* 39c in alginate-psyllium polymeric blends in simulated digestive system and yogurt. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 10: 350-361.
- Kabak B, Var I (2005) Probiyotik bakterilerin canlılığının korunmasında enkapsülasyon tekniğinin kullanımı. Gıda Kongresi İzmir, s. 326-329.
- Kamalian N, Mirhosseini H, Mustafa S, Manap MYA (2014) Effect of alginate and chitosan on viability and release behavior of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* g4 in simulated gastrointestinal fluid. Carbohydrate Polymers 111: 700-706.
- Koç M, Sakin M, Kaymak Ertekin F (2010) Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. P.Ü. Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16(1): 77-86.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H (2003) Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International Dairy Journal 13(1): 3-13.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H (2004) The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International Dairy Journal 14: 737-743.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H (2006) Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from uht- and conventionally treated milk during storage. LWT-Food Science and Technology 39: 177-183.
- Krasaekoopt W, Watcharapoka S (2014) Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. LWT-Food Science and Technology 57: 761-766.
- Laelorspoen N, Wongsasulak S, Yoovidhya T, Devahastin S (2014) Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in zein-alginate core-shell microcapsules via electrospraying. Journal of Functional Foods 7: 342-349.
- Martin MJ, Lara-Villoslada F, Ruiz MA, Morales ME (2015) Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. Innovative Food Science and Emerging Technologies 27: 15-25.
- Mirzaei H, Pourjafar H, Homayouni A (2012) Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* la5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. Food Chemistry 132: 1966-1970.
- Mortazavian A, Razavi SH, Ehsani MR, Sohrabvandi S (2007) Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. Iranian Journal of Biotechnology 5(1): 1-18.
- Pedroso DDL, Thomazini M, Heinemann RJB, Favaro-Trindade CS (2012) Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. International Dairy Journal 26 (2): 127-132.
- Perez-Chabela ML, Lara-Labastida R, Rodriuez-Huezo E, Totosa A (2013) Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant Lactic acid bacteria on meat batters properties. Food Bioprocess Technol 6: 1505-1515.
- Picot A, Lacroix C (2004) Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Dairy Journal 14: 505-515.
- Rajam R, Anandharamkrishnan C (2015) Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (mcc 5422) with fructooligosaccharide as

- wall material by spray drying. LWT-Food Science and Technology 60: 773-780.
- Rathore S, Desai PM, Liew CV, Chan LW, Heng PWS (2013) Microencapsulation of microbial cells. Journal of Food Engineering 116: 369-381.
- Ribeiro MCE, Chaves KS, Gebara C, Infante FNS, Grosso CRF, Gigante ML (2014) Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* la-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. Food Research International 66: 424-431.
- Rodriguez-Huezo ME, Estrada-Fernandez AG, Garcia-Almendarez BE, Ludena-Urquiza F, Campos-Montiel RG, Pimentel-Gonzalez DJ (2014) Viability of *Lactobacillus plantarum* entrapped in double emulsion during Oaxaca cheese manufacture, melting and simulated intestinal conditions. LWT-Food Science and Technology 59 (2): 768-773.
- Rosas-Flores W, Ramos-Ramirez EG, Salazar-Montoya JA (2013) Microencapsulation of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* using alginate and gellan gum. Carbohydrate Polymers 98: 1011-1017.
- Shaharuddin S, Muhamad II (2015) Microencapsulation of alginate-immobilized bagasse with *Lactobacillus rhamnosus* nrrl 442: Enhancement of survivability and thermotolerance. Carbohydrate Polymers 119: 173-181.
- Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P, Kailasapathy K (2000) Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Journal of Food Microbiology 62: 47-55.
- Ünal E, Erginkaya Z (2010) Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu. Gıda 35(4): 297-304.
- Vuyst LD, Falony G, Leroy F (2008) Probiotics in fermented sausages. Meat Science 80: 75-78.
- Zhao Q, Mutukumira A, Lee S, Maddox I, Shu Q (2012) Functional properties of free and encapsulated *Lactobacillus reuteri* DPC16 during and after passage through a simulated gastrointestinal tract. World Journal of Microbiology and Biotechnology 28 (1): 61-70.