



Araştırma Makalesi

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

Neslihan GÜLER¹, Özlem TURGAY^{1,2}

ÖZ

Bu çalışmada probiyotik *Bifidobacterium bifidum* bb-12 liyofilizasyon yöntemi kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Kaplama materyali olarak 1:1 oranında gam arabik (GA):yağsız süt tozu (YST), 1:9 oranında GA:YST, %20 YST, %30 YST, %20 GA ve %30 GA kullanılmış ve model gıda olarak kakaolu puding seçilmiştir. Pudinglerden (50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 ve 85°C'de 5dk) örnekler alınarak canlı mikroorganizma sayıları ve enkapsüle probiyotik mikroorganizmaların ısıl işleme karşı gösterdikleri direnç belirlenmiştir. Sıcaklığa karşı en iyi korumayı 2.58 logaritmik fazlık azalma ile 1:9 GA:YST kapsülünün sağladığı belirlenmiştir. Kapsüllerin depolama dayanımları ise 1 ay boyunca 5 ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta incelenmiştir ve 5°C'de tüm kapsüllenmiş mikroorganizmaların canlılıklarını ve probiyotik özelliklerini korudukları gözlemlenmiştir ($>10^6$ log kob g⁻¹). Ayrıca 25°C'de %20 GA ve %30 GA haricindeki kapsüllerin iyi bir koruma sağlayarak mikroorganizmaların probiyotik özelliklerini koruduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Liyofilizasyon, *Bifidobacterium bifidum*, Isıl işlem, Enkapsülasyon

Effect of Heat Treatment on Encapsulated and Unencapsulated *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and Addition to Model Food

ABSTRACT

In this study, the probiotic bacteria *Bifidobacterium bifidum* was encapsulated using the lyophilization method. As a coating material in, 1:1 ratio of gum arabic (GA) and skim milk powder (RSM), a 1:9 ratio of GA: RSM, 20% RSM, 30% SKM, 20% GA, and 30% GA were used, and cocoa pudding was selected as the model food. Samples were taken from puddings (50, 55, 60, 65, 70, 70, 75, 80, 85 and 85°C for 5 min) and the number of viable microorganisms and the resistance of encapsulated probiotic microorganisms to heat treatment were determined. Among the coating materials we used, it was determined that the 1:9 GA: RSM capsule provided the best protection against temperature with a decrease of 2.58 logarithmic phases. The storage strength of the capsules for 1 month at two different temperatures, 5°C and 25 °C, was examined, and it was observed that all encapsulated microorganisms preserved their viability and probiotic properties at 5 °C ($>10^6$ log kob g⁻¹). In addition, it was determined that the capsules at 25°C, except for 20% GA and 30% GA, provided good protection and preserved the probiotic properties of the microorganisms.

Keywords: Lyophilization, *Bifidobacterium bifidum*, Heat Treatment, Encapsulation, Probiotic

Orcid ID (Yazar sırasına göre)

0000-0003-1438-2751, 0000-0003-2286-833X

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 12.04.2023

Kabul Tarihi: 18.10.2023

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş

*E-posta: nsllhanglr@gmail.com

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenmeye karşı artan ilgiden dolayı fonksiyonel gıdalara olan talep artmaya başlamıştır. En önemli fonksiyonel gıda gruplarından birisi de probiyotik mikroorganizma içeren gıda ürünleridir (Tontul, 2017). Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli miktarda vücuda alındığında sağlığa olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Hayatoğlu, 2021). Probiyotik gıdalara olan talebin artmasıyla, probiyotik gıda üretimi üzerine yapılan çalışmalarda çoğalmıştır. Bir gıda ürününün probiyotik gıda olarak değerlendirilmesi ve faydalı etkisinin görülebilmesi için canlı mikroorganizmanın en az 10^8 - 10^9 kob ml⁻¹ olması gerektiği belirtilmiştir (Shori, 2017).

Bifidobacterium bifidum BB-12; katalaz negatif, çubuk şekilli bir bakteri olup yüksek stabiliteye sahip, aerotolerans, safra ve gastrik koşullara dayanımının iyi olduğu bildirilmektedir. Bifidobakterilerin bazı rahatsızlıkların doğrudan tedavisini sağladığı veya zararlı patojenik türleri baskılayarak dolaylı olarak iyileşmeyi teşvik ettiği bildirilmektedir (Ji ve ark., 2019). Bu bakteriler patojenik mikroorganizmalara, hipertansiyona, iltihaplanmaya, diyabete, oksidatif strese vb. karşı çeşitli sağlık yararlarının bulunduğu bildirilmektedir (Novik ve Savich, 2020). Ayrıca eklendiği gıdada tat, görünüm ve gıdanın ağızda bıraktığı his üzerine olumsuz etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Camargo ve ark., 2021).

Bifidobacterium gibi probiyotik mikroorganizma içeren fonksiyonel gıdaların geliştirilmesini ve üretimini kısıtlayan bir takım engeller vardır. Probiyotik canlılığı, gıdaların üretimi ve depolaması esnasında olumsuz koşullara (bağıl nem, sıcaklık) karşı hassastır. Ayrıca gıda ürünleri ve gıda takviyelerinin nem içeriği, su aktivitesi, pH, sıcaklık gibi özelliklerinden de etkilenmektedirler (Barajas-Álvarez ve ark., 2021). Son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotiklerin teknolojik özelliklerinin artırılmasında kullanılabilecek yeni bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Ünal Turhan ve ark., 2017).

Mikroenkapsülasyon teknolojisi katı, sıvı ve gaz fazdaki aktif maddelerin (aroma maddeleri, mikroorganizmalar, vitaminler ve mineraller vb.) kaplama materyalleri ile kaplanarak mikro boyutlarda kapsüller elde edilmesidir. Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon işlemi, kaplanacak maddeyi sıcaklık, nem gibi dış etkenlerden korumak, aktif maddenin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek, raf ömrünü uzatmak, işlevselliğini korumak, istenmeyen tat ve aroma maddelerini maskeleyerek, aktif maddenin uygulama alanını artırmak ve optimal dozu sağlamak amacıyla kullanılmaktadır.

Mikroenkapsülasyon işleminde uygun mikroenkapsülasyon yönteminin seçilebilmesi için aktif maddenin türüne, mikrokapsül tipine (matris veya rezervuar), mikrokapsülün büyüklüğüne, çekirdeğin ve duvar materyalinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine, salınım mekanizmalarına, üretim ölçeği ve maliyete dikkat edilmelidir. Gıda endüstrisinde aktif maddelerin kaplama materyali ile kaplanması için mikroenkapsülasyon yöntemlerinden genellikle liyofilizasyon (dondurarak kurutma), püskürterek kurutma, püskürterek soğutma ve ekstrüzyon gibi teknikler kullanılmaktadır (Kanat ve Gülel, 2020).

Dondurarak kurutma yöntemi enerji maliyetinden dolayı diğer yöntemlere göre daha pahalıdır. Buna karşılık diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre avantajı son ürünün oldukça kaliteli olması ve ısıya karşı duyarlı probiyotikler, enzimler ve peptitler gibi bileşiklerin için uygun bir yöntem olmasıdır. Dondurarak kurutma işlemi diğer kurutma işlemleri sırasında oluşabilecek tat-koku ve aroma kaybını önleyen bir sistemdir (Karagül ve Altuntaş, 2018). Bu çalışmada mikroenkapsülasyon yöntemi olarak liyofilizasyon işlemi tercih edilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işleminden beklenen başarımın sağlanabilmesi için uygun kaplama materyalinin (kapsül) seçilmesi önemlidir. Kaplama materyali seçilirken özellikle toksik olmamasına dikkat edilmeli, GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) özellikte olmalıdır. Ayrıca kaplama materyali, enkapsülasyon işlemi sırasında kolay işlenebilen, ucuz, inert,

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

aktif materyalin stabilitesini arttıran ve çevresel etkilerden koruyabilen bir materyal olmalıdır. Organik veya inorganik kaplama materyallerinden başta karbonhidratlar (nişasta, maltodekstrin, sakkaroz ve maltoz) olmak üzere proteinler (jelatin, peynir altı suyu proteinleri, kazein ve kazeinatlar gibi proteinler) ve gamlar (gam arabik) tercih edilmektedir (Geniş ve Tuncer, 2019). Bu çalışmada kaplama materyali olarak bir adet protein ve bir adet karbonhidrat bazlı olması dikkate alınarak yağsız süt tozu ve gam arabik seçilmiştir.

Gam arabik çözündürüldüğünde renksiz ve tatsızdır ve kimyasal bileşiklerle kolayca etkileşime girmez (Musa ve ark., 2019). Silva ve ark., (2018) tarafından yapılan bir çalışmada gam arabik kapsüllerinin probiyotikleri stres faktörlerine karşı korudukları bildirilmektedir. Ayrıca Arslan-Tontul ve Erbas, (2017) ve Da Silva ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmalarda da gam arabik kapsüllerinin probiyotik özellikleri iyileştirdiği bildirilmektedir.

Türk Gıda Kodeksi'ne göre yağsız süt tozu, süt yağı miktarı ağırlıkça % 1.5'tan az ve nem miktarı ağırlıkça % 5'ten az olan Koyulaştırılmış Süt ve Süt Tozu Tebliği'ne uygun hazırlanan katı bir süt ürünüdür (Anonim, 2008). Süt proteinlerinin iyi bir immobilizasyon ajanı olduğu bildirilmektedir. Farklı enkapsülasyon çalışmalarında yağsız süt tozu başarıyla uygulanmıştır (Gul, 2017; Çevik, 2017).

Bu çalışmada kapsüllenen mikroorganizmaların ısıl işleme karşı direncini kontrol etmek için model gıda olarak her yaş grup aralığı tarafından sevildiği bilinen kakaolu puding seçilmiştir. Pudingler, yarı katı bir dokuya sahip süt proteini ve nişasta içeren tatlılardır (Gurmeric ve ark., 2013). Üretilen pudinglerin duysal ve yapısal özelliklerini geliştirme yönünde yapılan çalışmaların yanında günümüzde fonksiyonel gıdaların önemi hakkında bilinçlenen tüketicilerin talepleri doğrultusunda pudinglere de fonksiyonel özellik kazandırma yönünde üreticilerin çalışmalarında da artış olduğu gözlemlenmiştir (Derzashamsir, 2017).

Gul ve Atalar (2019), yaptıkları bir çalışmada, probiyotik *Lactobacillus casei* Shirota suşunu

sprey kurutucu ve liyofilizasyon yöntemlerini kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Kapsül materyali olarak yağsız süt tozu, maltodekstrin, gam arabik ve bu materyallerin farklı oranlardaki karışımları kullanılmıştır. Tüm mikrokapsüller, mikrokapsülmeden sonra yüksek oranda canlılık ($7.91-9.37 \log \text{ kob } g^{-1}$) göstermiştir. Püskürterek kurutma yöntemi ile oluşturulan kapsüllerin düşük pH değerlerindeki dayanımının, dondurularak kurutma yöntemi ile oluşturulan mikrokapsüllere kıyasla daha iyi olduğu belirtilmektedir. Isısal dayanımda ise dondurularak kurutulan mikrokapsüllerin 85 ve 90°C'de daha yüksek koruyucu etki gösterdiği tespit gözlenmiştir. Sonuçlara göre bir kapsülleme maddesi olarak yağsız süt tozu:gam arabik karışımının kullanılmasının, yüksek sıcaklık, asidik pH ve safra tuzlarına karşı daha yüksek hücre koruması gösterdiği tespit edildiği bildirilmektedir.

Akgül (2018), yaptığı çalışmada, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 inülin içeren sinbiyotik süt ile zenginleştirilmiş sütlü çikolataların viskozite değerlerinin arttığı ve duysal beğeni puanlarını artırdığı gözlenmiştir.

Lactobacillus casei Shirota maltodekstrin (MD), yağsız süt tozu (RSM) ve arap zamkı (GA) ile püskürterek kurutma yöntemi ile kapsüllenmiştir.

Kapsüllenmiş mikroorganizmaların fiziksel yapılarının küre şeklinde gözlemlenmiştir. Puding örneklerinde mikrokapsüllenmiş hücre sayılarının 14. günde azaldığı tespit edilmiştir. RSM: GA kapsülleri içeren numunenin pH değeri daha stabil bulunmuştur. 4 ve 24°C'de depolama sırasında, RSM'nin probiyotik bakterilerin korunması için en iyi ortam olduğu bulunmuştur (Gul, 2017).

Yapılan bu çalışma ile *Bifidobacterium bifidum* oldukları ve yüzeylerinin pürüzsüz olduğu BB-12 (*Bifidobacterium animalis subsp. lactis*)'nin liyofilizasyon metodu ile enkapsüle edilerek mikroorganizmaların sıcaklık dayanımlarının artırılması amaçlanmaktadır. Oluşturulan kapsüllerin depolama dayanımları bir ay boyunca takip edilmiştir. Ayrıca üretilen kapsüllerin pudingin duysal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir.

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, mikroorganizma olarak *Bifidobacterium bifidum* (Kwik - Stik), kaplama materyali olarak yağsız süt tozu ve gam arabik tercih edilmiştir. Enkapsülasyon yöntemi olarak liyofilizasyon (dondurarak kurutma) işlemi uygulanmıştır. Model gıda olarak kakaolu puding kullanılmıştır. Puding standart hammaddeleri ilave edilerek yapılmıştır.

Çalışma boyunca; süt, kakao, yağsız süt tozu ve şeker yerel firmalardan temin edilmiştir. Ksantan (Roth), agar (Molar kimya), MRS (Lab a neogen company), gam arabik (Roth), laktoz (Sigma aldrich), sistein (Merck) ve pepton (Merck) kullanılmıştır.

Probiyotik kültürlerin çoğaltılması ve hazırlanması

Probiyotik mikroorganizmaların çoğaltılması, Çelik ve Turgay (2021) tarafından kullanılan metot ile yapılmıştır. Liyofilize kültürler iki aşamada sistein ilaveli deMan Rogosa Sharpe (MRS) broth ortamında anaerobik olarak 37°C’de aktivite edilmişlerdir. İlk aktivasyonda mikroorganizmalar steril %0,1 peptonlu (Merck, Almanya) su ile yıkanmıştır. Ardından, kültür 5 ml MRS broth besiyerine 24 saat süreyle inoküle edilmiştir. Kültür MRS broth'a aktarılmış ve ardından 18 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, örnek 4500 rcf’de 10 dakika santrifüj edilmiş ve iki kez peptonlu su ile yıkanmıştır. Kültür, %0,1 peptonlu su ile ml başına 10¹⁰ koloni oluşturan birim (cfu/ml) konsantrasyonuna seyreltilmiştir.

Kaplama materyalinin hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonu

Enkapsülasyon işleminde Gul (2017) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. Kaplama materyallerine 80°C’de 30 dakika ısıl işlem uygulanarak sterilizasyonları sağlanmıştır. Gam arabik ve yağsız süt tozu kullanılarak hazırlanan kaplama materyalleri ve oranları Çizelge 1’de verilmiştir. Kültürler kaplama materyali ile karıştırılıp -80°C’de dondurulmuştur. Sonrasında kültürler kapsülasyonun gerçekleşmesi için bir gece liyofilizatörde (Christ Alpha 1-2 LD) bırakılmıştır.

Liyofilizatörden alınan örnekler analize kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Kaplama materyallerinin oranları
Table 1. Ratios of coating materials

Kaplama materyali / Coating materials	GA	GA	RSM	RSM	GA: RSM	GA: RSM
GA konsantrasyonu (w/v) / GA concentration	30%	20%	-	-	%7.5	3%
YST konsantrasyonu (w/v) / RSM concentration	-	-	30%	20%	%7.5	27%
Kültür miktarı: Kaplama materyali miktarı / Amount of culture: Amount of coating material (v/v)	1:1.5	1:1.5	1:1.5	1:1.5	1:1.5	1:1.5

Enkapsülasyon verimlerinin hesaplanması

Enkapsüle edilen mikroorganizma enkapsülasyon prosesi esnasında bir miktar canlılık kaybına uğrayabilmektedir. Bu canlılık kaybının az olması enkapsülasyon işleminin başarı kriterlerinden birisidir. Enkapsülasyon verimi Petraityté ve Şipailiené (2019) tarafından kullanılan metot baz alınarak Eşitlik 1’deki gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Enkapsülasyon verimi} = \frac{N_0}{N_1} \times 100 \text{ (Eşitlik 1)}$$

N₀: Enkapsülasyon öncesi canlı mikroorganizma sayısı (kob ml⁻¹)

N₁: Enkapsülasyon sonrası canlı mikroorganizma sayısı (kob ml⁻¹)

Kapsüllerin depolama dayanımı

Kapsüllenmiş bakteriler 5 ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanmıştır. Bir aylık depolama boyunca haftalık olarak canlı kalan mikroorganizma sayısı MRS agar ortamına anaerobik koşullarda belirlenmiştir.

Kapsüllenmiş mikroorganizmaların model gıdaya ilavesi ve ısıl direncin hesaplanması

Model gıda olarak seçilen pudingi laboratuvar ortamında üretmek için Gurmeric ve ark.,

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

(2013) tarafından geliştirilen puding formülasyonu ve üretim prosesi kullanılmıştır. Kullanılan formülasyonun çalışmaya uyarlanmış hali Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Puding üretiminde kullanılan malzemeler ve miktarları

Table 2. Ingredients and quantities used in pudding production

Malzeme / r/ ingredients	Süt / milk	Şeker / sugar	Süt Tozu / skin milk	Kakao / cacao	Ksantan / xanthan	Niasta / starch
Miktar / quantity	300 ml	30 g	15 g	6 g	0.6 g	12.6 g

Puding; süt 40°C’ye kadar ısıtıldıktan sonra tüm malzemeler ile kapsüllenmiş bakteriler süte ilave edilip 85°C’ye kadar ısıtılmıştır. Bu sıcaklıkta 5 dk tutulan puding sonrasında soğumaya bırakılmıştır. Isıl işlem esnasında 50-55-60-65-70-75-80-85°C’de 5 g örnekleme yapılarak 45ml’lik peptonlu suya eklenmiştir. Ayrıca 85°C’de 5 dk ısıl işlem ile hazırlanan puding soğumadan önce bir örnekleme daha yapılmıştır. Kapsüllenmiş bakterilerin ısıya karşı göstermiş oldukları direnç yapılan mikrobiyal ekimler sonucunda belirlenmiştir.

Duyusal analiz

Duyusal analiz işlemi Kılınç (2021) tarafından kullanılan yöntem baz alınarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanları ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 10 kişilik panelist ekibi (ürün ve duyusal analiz yöntemleri konusunda eğitilen) tarafından yapılmıştır.

Puding örnekleri şeffaf, derin, plastik kaplarda panelistlere rastgele numaralandırılarak sırasıyla sunulmuştur. Duyusal analiz testi Çalışkan (2021) tarafından hazırlanan duyusal analiz formu modifiye edilerek kullanılmıştır. Duyusal analiz için çoklu kıyaslama testi olan puanlama testi tercih edilmiştir. Kapsüllenmiş ve kapsüllenmemiş mikroorganizmaların pudingin duyusal özellikleri üzerindeki etkisi kontrol edilerek kıyaslanmıştır. Örnek duyusal analiz formu Ek-1’de verilmiştir.

SEM görüntüleme

Kapsüllenmiş hücrelerin morfolojileri hakkında bilgi sahibi olmak ve kapsül büyüklüklerini ölçmek amacıyla yapılmıştır. Çelik (2017) tarafından kullanılan metot baz alınarak SEM (Zeiss EVO LS10) ile görüntülenmiştir.

İstatistik analiz

Çalışmada üretim ve analizler en az üç paralel olacak şekilde çalışılmıştır. Sonuçlar, ortalama değerleri ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Veriler, SPSS 26v. Programı ile %95 anlamlılık düzeyinde test edilmiştir. Gruplar arasındaki önemli farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testini izleyen tek yönlü varyans analizi ANOVA kullanılarak belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kapsülasyon verimi

Enkapsülasyon verimi materyal ve metotta verilen Eşitlik 1’e göre hesaplanmıştır. Maksimum enkapsülasyon verimi %30’luk yağsız süt tozu kullanılan kapsüllerde, en düşük enkapsülasyon verimi ise %30’luk gam arabik kullanılan kapsüllerde tespit edilmiştir; sonuçlar sırasıyla %94.57 ve %86.33 olarak bulunmuştur. Tüm kapsül formülasyonlarının verimleri Çizelge 3’te verilmektedir. Çizelge 3’teki canlılık verimleri değerlendirildiğinde bileşiminde yağsız süt tozu bulunan kapsüllerin canlılığında anlamlı bir fark olduğu, yağsız süt tozunun canlılık üzerine olumlu bir etkisi olduğu görülmektedir. Bu durum yağsız süt tozunun kriyoprotektan etkisinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Çizelge 3. Kapsüllerin canlılık verimleri

Table 3. Viability of yields in capsules

Kapsül çeşitleri / types of capsules		Canlılık verimi (%) / viability yields (%)
GA: RSM	1:1	93.39b
GA: RSM	1:9	93.76b
RSM	20%	93.96b
RSM	30%	94.57a
GA	20%	87.53c
GA	30%	86.33c

Harfler enkapsülasyon işleminde kullanılan kaplama materyalleri arasındaki farkı temsil etmektedir.

The letters represent the difference between the coating materials used in the encapsulation process.

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

B. bifidum BB-12'nin gam arabik ile püskürterek kurutuma tekniği uygulanarak ve palm yağı ile püskürterek dondurma tekniği kullanılarak enkapsüle edildiği bir çalışmada ise enkapsülasyon verimi sırası ile %82 ve %92 olarak bildirilmiştir (Arslan-Tontul ve Erbas, 2017). Ayrıca çalışmada püskürterek dondurma yöntemiyle yapılan enkapsülasyon işleminin liyofilizasyon ile yapılacak enkapsülasyon işlemine benzer verim sağlayacağı bildirilmektedir. Çalışma sonuçları bulgularımız ile paralellik arz etmektedir. Kapsülasyon verimimizin yüksek olması liyofilizasyon işleminde mikroorganizmaların yüksek oranda korunduğunu göstermektedir.

Isıl İşlem Dayanımı

Kapsüllenmiş probiyotik mikroorganizmanın ısısal direnci, MRS agar ortamına anerobik koşullarda belirlenmiştir. Enkapsülasyonla oluşturulan probiyotik kapsüllerin farklı sıcaklık değerlerinde göstermiş oldukları sıcaklık dayanımı Çizelge 4'te gösterilmiştir. Kapsüllenmemiş kontrol örneğinin canlılığı 60°C'den sonra hızlı bir şekilde azalmış ve 85°C'de ortamda canlı mikroorganizma tespit edilememiştir. Gam arabik ve yağsız süt tozunun 1:1 kullanıldığı örnek dışındaki tüm kapsüllerde 85°C'de 5 dakika ısı muamele sonucunda mikrobiyal canlılık tespit edilmiştir. Kapsüllenmiş mikroorganizmalarının ısısal direncini en iyi arttıran kapsül formülasyonu 1:9 oranında hazırlanan gam arabik: yağsız süt tozu kapsülü olarak belirlenmiştir. Bu kapsülde puding üretimi esnasında sadece 2.58 log kob g⁻¹ canlılık kaybı görülmüştür. Kapsüllerin koruyuculuk sıralaması çoktan aza doğru, 1:9, %30 GA; %30 RSM; %20 GA ve %20 RSM şeklindedir. İşlem sonunda canlı kalım oranları sırayla %68, %48, %41, %39 ve %32 olarak bulunmuştur.

Kapsüllenmiş mikroorganizmalar canlılıklarını, %20 GA kapsülü hariç, 75°C'de yaklaşık %70 oranında korumuştur. Kapsüllenmemiş mikroorganizma ise bu sıcaklıkta canlılığının %68'ini kaybetmiştir. Bu sıcaklıkta kaplama konsantrasyonu fazla olan mikroorganizmaların az olanlara kıyasla canlılıklarını daha iyi koruduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi konsantrasyonun fazla olmasına bağlı olarak ısı

iletimin daha yavaş meydana gelmesi şeklinde yorumlanabilir. Artan YST konsantrasyonuna bağlı olarak canlılık önemli ölçüde korunmuştur. YST ile GA'nın birlikte kullanılması yağsız süt tozunun yüksek konsantrasyonda kullanıldığı örneklerde sinerjik etki göstermiştir. Benzer şekilde Gul ve Atalar, (2019) yaptıkları çalışmada gam arabik ve yağsız süt tozunun kaplama materyali olarak kullanıldığı kapsüllerde ısısal direncin daha iyi korunduğunu bildirmektedir. Enkapsülasyonun sadece gam arabik ile yapıldığı örneklerde gam arabik konsantrasyonunun artması canlılığa olumlu etki etmiştir. 1:1 oranında kapsül materyalinin kullanıldığı örnekte canlılığın düşük olmasının sebebi; kaplamada kullanılan kapsül materyalinin düşük konsantrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Fritzen-Freire ve ark., (2013) *Bifidobacterium* BB-12 bakterisini püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsüle edip sıcaklık direnci üzerine çalışmışlardır. Yağsız süt tozu kullanılarak oluşturdukları kapsüllerin 55°C'de 10 dk ısısal işlem sonucunda 0.15 logaritmik faz azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada 75 °C'de 10 dk ısısal işlem sonucunda kapsüllerin canlılıkları <6 log kob ml⁻¹ olarak bildirilmektedir. Çalışmamız sonuçlarında da 55°C'de alınan örneklerde önemli bir azalma görülmemiştir (p<0.05). Kapsüllerin 75°C'de dayanım sonuçlarında ise sadece %30'luk gam arabik probiyotik özellik gösterebilmiş, yağsız süt tozu ve yağsız süt tozu-gam arabik kombinasyonları 6 log kob ml⁻¹ sınırının altına düşmüşlerdir. Burada dikkat edilmesi gereken husus logaritmik azalma çok olmamasına rağmen başlangıç konsantrasyonundaki göreceli düşüklük nedeniyle 6 log kob g⁻¹ sınırının altına düşmüş olmasıdır. Ji ve ark., (2019) yaptıkları bir çalışmada kapsüllenmiş *B. longum*'un ısısal işleme toleransını ölçmek için 30 dakika boyunca 55, 60 ve 65°C ısıya maruz bırakmıştır. Çalışma sonucunda, alginat kapsülleri bu sıcaklıklarda sırasıyla 0.24, 0.53 ve 1.72 logaritmik azalma göstermiştir. Kitosan kapsülleri ise 0.20, 0.64 ve 1.14 log kob azalmıştır. Çalışılan sıcaklık aralığında sonuçlarımız paralellik göstermektedir.

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

Çizelge 5. Enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların 5 °C ve 25°C’de depolama boyunca gösterdikleri canlılık oranları
Table 5. Viability of microorganisms with encapsulated during storage at 5 and 25 °C

Kapsül çeşitleri / types of capsules		Sıcaklık dereceleri (C) / temperature degrees								
		50	55	60	65	70	75	80	85 ilk / first	85 son/ last
Kontrol / control		7.01 ± 0.6 ^{a'a}	6.32 ± 0 ^{b'a}	6.18±0.42 ^{b'a}	3.15± 0.01 ^{c'a}	2.22 ±0.6 ^{d'a}	2.20 ± 0 ^{d'a}	2.06±0 ^{d'a}	1.49±0 ^{c'a}	0±0 ^{*f'a}
GA: RSM	1:1	8.23±0.02 ^{a'b}	7.80 ± 0 ^{a'b}	7.75 ± 0 ^{a'b}	7.70±0.82 ^{a'b}	6.21±0.03 ^{b'b}	5.99±0.01 ^{b'b}	5.15 ± 0.2 ^{c'b}	2 ± 0.1 ^{d' b}	0 ± 0 ^{*c'a}
GA: RSM	1:9	8 ± 0 ^{a'b}	7.97 ± 0 ^{a'b}	7.77 ± 0 ^{a'b}	7.16±0.15 ^{a'b}	6.78±0.06 ^{b'c}	5.84±0.55 ^{c'b}	5.84±0 ^{c'c}	4.84±0.1 ^{d'c}	5.42±0.64 ^{c'b}
RSM	20%	8.13±0.55 ^{a'b}	8.66 ± 1 ^{a'c}	8.67±0.35 ^{a'c}	6.77±0.09 ^{b'c}	5.64±0.04 ^{c'd}	5.53±0.77 ^{c'b}	4.39±0.35 ^{d'd}	3.82±0.9 ^{e'd}	2.60±0 ^{f'c}
RSM	30%	8.47±0.47 ^{a'b}	8.4 ± 0.5 ^{a'c}	7.61±0.97 ^{b'd}	6.68±0.02 ^{c'c}	6.30 ± 0 ^{c'c}	5.71±0.41 ^{d'b}	3.76±0 ^{e'c}	3.51±0 ^{e'c}	3.48± 0 ^{e'd}
GA	20%	8.50±0.19 ^{a'b}	7.62 ± 0.37 ^{a'd}	7.23±0.22 ^{a'd}	6.44 ± 0.4 ^{b'c}	4.67±0.47 ^{c'f}	3.63±0.38 ^{d'c}	3.53±0.42 ^{d'c}	3.16±0.95 ^{d'c}	3.35±0.67 ^{d'd}
GA	30%	8.87±0.440 ^{a'b}	9.32 ± 0.42 ^{a'c}	9 ± 0.4 ^{a'c}	7.68±0.18 ^{b'd}	7.90±0.4 ^{b'g}	7.94±0.73 ^{b'd}	7.15±0.82 ^{c'f}	5.52±0.41 ^{d'f}	4.32±0.42 ^{c'c}

*: 10⁻² 'lik dilüsyon ekiminde canlı mikroorganizmaya rastlanılmadı.

*: No live microorganisms were found in the 10⁻² dilution sowing.

İlk harf sıcaklıklar arasındaki farkı, ikinci harf ise kapsüller arasındaki farkı temsil etmektedir.

The first letter represents the difference in temperatures, and the second letter represents the difference between the capsules.

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

Çizelge 5. Enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların 5 °C ve 25°C’de depolama boyunca gösterdikleri canlılık oranları
Table 5. Viability of microorganisms with encapsulated during storage at 5 and 25 °

Kapsül / Sıcaklık / capsule / temperature	Başlangıç / beginning	Süre / time				Logaritmik azalma (1 ay) / Logarithmic reduction (1 month)
		1. Hafta / week	2. Hafta / week	3. hafta / week	4. Hafta / week	
1:1 / 5° C	9.89 ± 0 ^a a	9.89 ± 0 ^a a	9.59 ± 1.2 ^a a	9.5 ± 0.4 ^a a	9.1 ± 0.15 ^a a	0.79
1:1 / 25 °C		9.89 ± 0 ^a a	9.57 ± 0.31 ^a a	9.8 ± 0.51 ^a a	8.84 ± 0.70 ^a a	1.05
1:9 / 5 °C	9.33 ± 0.36 ^a a	9.69 ± 0 ^a a	9.87 ± 0 ^a a	10.32±0.01 ^a a	8.74±0.12 ^a a	0.59
1:9 / 25 °C		8.97 ± 0 ^a b	8.89 ± 0 ^a b	8.95 ± 0.84 ^a b	8.96±0.34 ^b a	0.37
% 20 YST / 5 °C	10.3 ± 0.9 ^a a	10.15±0.38 ^a a	9.91±0.35 ^a a	9.21±0.53 ^a	7.12±0.03 ^b a	3.18
% 20 YST /25 °C		9.95 ±0.52 ^a a	9.43 ±0.8 ^a a	8.69±0.27 ^a b	8.11± ,35 ^a b	2.19
% 30 YST / 5° C	10.51±0.23 ^a a	10.32±0.8 ^a a	9.28 ± 1.08 ^a a	8.97±0.54 ^a a	8.39±0.19 ^a a	2.12
% 30 YST /25 °C		10.2±0.42 ^a a	8.56 ± 0.04 ^b a	8.83±0.63 ^b a	7.86±0.55 ^c b	2.65
% 20 GA / 5 °C	9.91 ± 0.37 ^a a	9.3 ± 0.9 ^a a	8.71 ± 0.97 ^a a	8.82 ± 0.29 ^a a	7.33±0.01 ^b a	2.58
% 20 GA / 25°C		9.83±0.94 ^a a	5.6 ± 0.68 ^b b	4.94 ± 0.67 ^b b	3.99±0.72 ^b b	5.92
% 30 GA / 5 °C	9.53 ± 0.3 ^a a	9 ±0. 77 ^a a	8.94±0.86 ^a a	8.86±0.21 ^a a	7.37±0.01 ^b a	2.16
% 30 GA / 25° C		9 ± 0.3 ^a a	8.92±0.17 ^a a	6.41±1.23 ^b b	4.71 ± 0 ^c b	4.82

İlk harf haftalar arasındaki farkı, ikinci harf ise sıcaklıklar arasındaki farkı temsil etmektedir.

The first letter represents the difference between weeks, and the second letter represents the difference between temperatures

Harfler aynı orandaki kapsüller arasındaki farkı temsil etmektedir.

Letters represent the difference between capsules of the same proportion.

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

Kapsüllemiş mikroorganizmaların depolama stabilitesi

İşleme ve depolama sırasında probiyotik kapsüllerde hücre hasarı ve aktivite kaybı meydana gelebilir. Uygun bir kapsülasyon işlemi, depolama süresi boyunca canlı kalması gereken bakterilerin hayatta kalmasını sağlamalıdır. Bu sayede oluşturulan kapsüller ürüne eklenene kadar probiyotik özelliklerini kaybetmeden korunacakları süre ve/veya ürün içinde kapsülün canlılık kaybının ne derece olacağı öngörülebilir. Deney tasarımı hazırlanan kapsüller 5 ve 25°C'de 1 ay boyunca depolanmıştır. Depolama boyunca haftalık olarak kapsüllemiş bakterilerin canlılıkları kontrol edilmiştir. Kapsüllemiş mikroorganizmaların depolama dayanımları Çizelge 5' te verilmektedir.

GA:YST 1:1 oranında kullanıldığı kapsüllerde 5 ve 25°C'de canlılığın önemli ölçüde korunduğu tespit edilmiş olup canlılık kaybı sırayla 0.79 ve 1.05 log kob g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Bir aylık depolama sonucunda mikroorganizma sayısında anlamlı bir azalma meydana gelmemiştir.

Hazırlanan kapsüllerden 1:9 GA:YST olanı, bir aylık depolama boyunca mikroorganizma canlılıklarının, 5 ve 25°C'de sırasıyla %93.6 ve %96'sını koruyarak diğer kapsüllere kıyasla en iyi korumayı sağladığı belirlenmiştir. 4 hafta boyunca her iki sıcaklıkta da depolanan kapsüllemiş mikroorganizmaların canlılıkları arasında azalmalar olsa da %90'dan fazlasının canlı kaldığı gözlenmiştir. İki kaplama materyalinin birlikte kullanılması sinerjik etki göstermiştir.

Bir ay boyunca 5 ve 25°C'de depolanan %20'lik yağsız süt tozu ile enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların 1 aylık canlılık verimlilikleri sırasıyla %70.1 ve %79 olup 5°C'de anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. 25°C'de depolanan kapsüllemiş mikroorganizmaların başlangıç ve depolama sonundaki canlılıkları arasında anlamlı bir fark olsa da haftalık olarak bakıldığında önemli bir kayıp olmadığı tespit edilmiştir. % 20'lik yağsız süt tozu, bir ay boyunca depolanan *B. bifidum* BB-12 üzerinde en iyi korumayı 25°C'de sağlamıştır.

Probiyotik mikroorganizmaların %30 oranında YST ile enkapsüle edilmesi sonucu canlılık kayıpları 5 ve 25°C'de sırasıyla 2.12 ve 2.65 log kob g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Depolama başlangıcı ve sonunda 5°C'de depolanan kapsüllerde anlamlı bir fark vardır. Ancak canlı mikroorganizma sayısında görülen haftalık azalmalar arasında anlamlı bir fark görülmemektedir. 25°C'de depolama sonunda mikroorganizmaların %75'inin canlı kaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar; kaplama materyali olarak %30'luk yağsız süt tozunun depolama üzerinde olumlu etkisi var olarak yorumlanmıştır.

Kaplama materyallerinden %20'lik gam arabik ile enkapsüle edilen mikroorganizmaların canlılık verimlilikleri 5 ve 25°C'de sırasıyla %74 ve %40.2 olarak belirlenmiştir. 5°C'de depolanan mikroorganizma canlılığında anlamlı bir fark olsa da mikroorganizmaların yaklaşık %75'inin canlı kalmasıyla olumlu bir sonuç elde edilmiştir. 25°C'de %20'lik gam arabik ile kapsüllemiş mikroorganizmalar canlılıklarının yaklaşık %60'ını kaybetmiştir. Kapsüller arasında en az korumayı 25°C'de %20 gam arabik göstermiştir.

Mikroorganizmalardan %30'luk gam arabik ile enkapsüle edilen probiyotik mikroorganizmalar, bir aylık depolamada canlılık kayıpları 5°C ve 25°C'de sırasıyla 2.16 ve 4.82 log kob g⁻¹ olarak hesaplanmıştır. İki farklı sıcaklıkta depolanan enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların canlılıkları arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir.

Depolama sonuçları değerlendirildiğinde 5°C'de depolanan kapsüller canlılıklarını 25°C'de depolanan örneklere göre daha iyi korumuşlardır. Bu muhtemelen mikroorganizmaların 25°C'de hücre ölümü ve hücre canlılığının kaybı ile sonuçlanan metabolik aktivitesinden (Holkem ve ark., 2017) veya kapsülün yüzey yapısına bağlı olarak oksijen varlığı sebebiyle canlılığın yitirilmesinden kaynaklanıyor olabilir (Silva ve ark., 2018). Depolamada canlılığının en düşük değeri kapsül bileşimi ve depolama sıcaklığı %20 ve %30 oranında hazırlanan gam arabik kapsüllerinin 25°C'de depolandıklarında kaydedilmiştir. Bu kapsüller canlılıklarının %50'den fazlasını kaybetmektedir. Fakat düşük

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

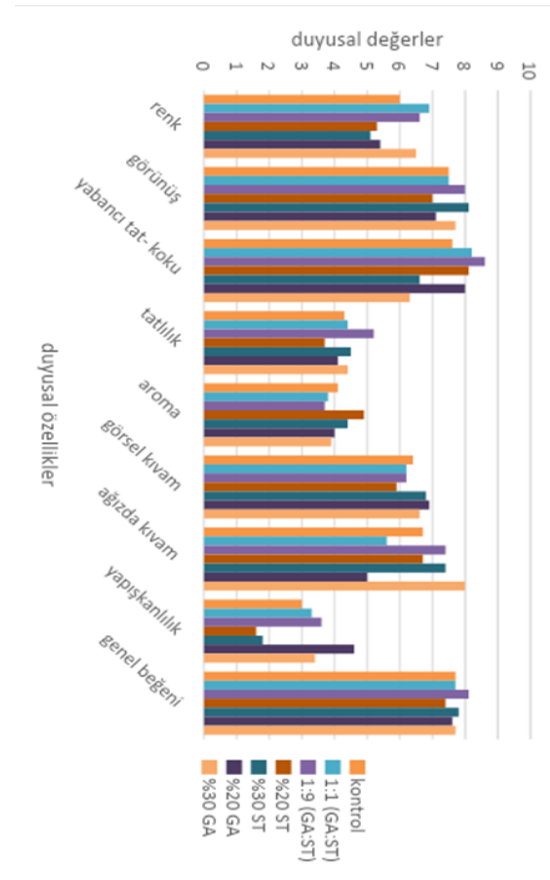
sıcaklıkta depolandıklarında sırasıyla sadece 2.58 ve 2.16 logaritmik azalma meydana gelmektedir. Literatür çalışmaları değerlendirildiğinde uygulanan metot ve kapsül bileşimine bağlı bazı farklılıklar bulunsa da düşük sıcaklıkta depolamanın canlılığı artırıcı etki gösterdiği ve enkapsülasyon işlemi ile mikroorganizmanın kurumaya karşı direncinin artırıldığı görülmektedir. Juárez-Trujillo ve ark., (2021) yapmış oldukları bir çalışmada *Bifidobacterium animalis* bakterisini farklı yöntemlerle enkapsüle ederek proses, depolama ve gastrointestinal ortamdaki dayanımını kontrol etmişlerdir. Liyofilizasyon yöntemi ile enkapsüle edilen *B. animalis* bakterisinin depolama sonuçlarına göre en iyi koruma 4°C'de muhafaza edildiğinde sağlanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre bu sıcaklıkta yapılan depolamada minimum 7.12 maksimum 9.1 logaritmik faz canlı kalım sağlanmıştır. Holkem ve ark., (2017) enkapsüle edilmiş *Bifidobacterium* BB 12 mikroorganizmalarını 120 gün boyunca -18, 7 ve 25°C'de canlılık kayıplarını gözlemlemiştir. İki hafta sonunda 7°C'de depolanan kapsüllerin 6 logaritmik fazın altına düştüğü belirlenmiş, 25°C'de ise 75 gün boyunca probiyotik özelliğın koruduğu bildirilmektedir. Ji ve ark., (2019), yaptıkları bir çalışmada *B. longum* mikroorganizmaları 180 gün 4°C ve 25°C'de depolanmıştır. Depolama sonucuna göre 4°C'de kapsüllerde ve kontrol örneğinde anlamlı bir azalma gözlemlenmemiştir. 25°C'de ise kapsüllenmemiş hücreler 3.43 logaritmik faz azalırken kapsüllerde 1.44-2.03 logaritmik fazlık bir azalma meydana gelmiş; kapsüllenmiş mikroorganizmanın depolama stabilitesinin daha iyi olduğu bildirilmiştir. Literatür çalışmaları çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğince yapılacak diğer bir çıkarım bileşimde yağsız süt tozu bulunan örneklerde canlılığın depolama boyunca daha iyi korunduğu yönündedir. Bu sebeple yağsız süt tozunun gam arabiğe kıyasla daha iyi bir kriyo-optik ajan olduğu çıkarımı yapılabilir. Benzer şekilde Gul (2017) yapmış olduğu çalışmada, kaplama materyali olarak yağsız süt tozu kullanıldığında 4 ve 24°C'de probiyotiklerin canlılıklarını oldukça iyi bir

şekilde muhafaza ettiğini bildirmektedir. Kaplama materyali olarak kullanılan yağsız süt tozu tek başına olumlu bir koruma sağladığını bildirmektedir.

Kapsüllenmiş probiyotik ilaveli kakaolu pudringin duyu analizi

Kapsüllenmiş mikroorganizmalar kullanılarak üretilen pudringler panelistler tarafından beğenilmiştir. Kontrolle kıyasla herhangi bir yabancı tat-koku ve aroma hissedilmemiştir. Duyusal analiz sonuçları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Duyusal analiz sonuçları
Figure 1. Sensory analysis results

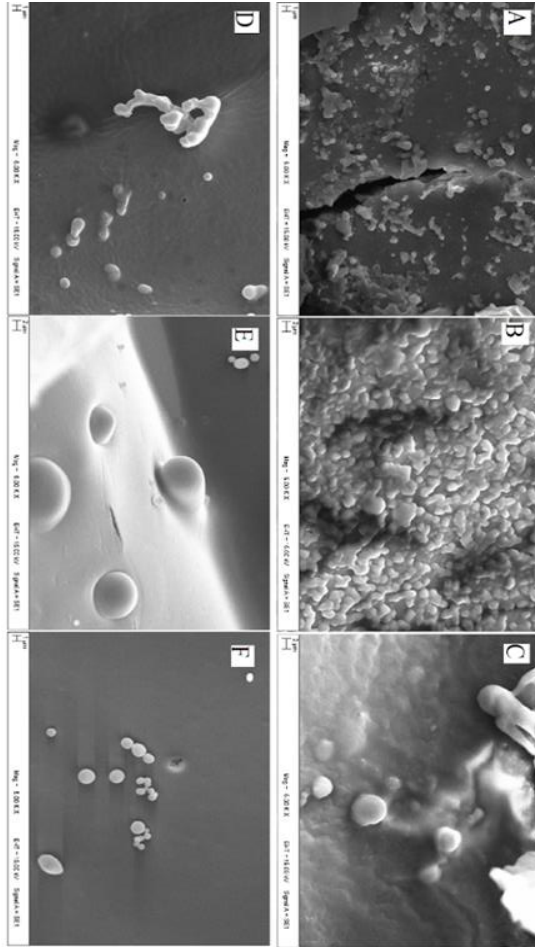
Üretilen pudringler renk olarak koyu, yapı ve kıvam olarak uygun bulunmuştur. Kapsüllerden kaynaklı herhangi bir pütürlü yapı hissedilmemiştir. Bunun sebebi oluşturulan kapsüllerin boyutlarının küçük olması ve oluşturulan kapsüllerin suda çözünür özelliğe sahip olmasıdır. Yağsız süt tozu ile

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

kapsüllemiş mikroorganizmaların ilave pudding örneklerinin diğerlerine kıyasla yapışkanlığının daha az olduğu gözlemlenmiştir. Fakat genel beğeniye bakıldığında kullanılan kapsüllerin duyuşal özellikler üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

SEM görüntüleme sonuçları

Kapsüllerin SEM görüntüleri genel olarak değerlendirildiğinde polimorfik yapı göstermektedir. Yağsız süt tozu içeren kapsüllerin, diğer kapsüllere oranla daha yoğun bir matriks oluşturduğu gözlemlenmiştir. Gam arabik içeren kapsüllerin az pürüzlü, ve küresele yakın bir yapıya sahip oldukları belirlenmiştir. Kapsüllerin SEM görüntülemeleri Şekil 2’de sırasıyla verilmiştir.



Şekil 2: Kapsüllerin SEM görüntülemeleri (A, B, C, D, E ve F harfleri sırasıyla 1:1 (GA:YST), 1:9 (GA: YST), %20 YST, %30 YST, %20 GA ve %30 GA kapsüllerini ifade etmektedir.)

Figure 2: SEM images of capsules (A, B, C, D, E and F letters respectively 1:1 (GA:RSM), 1:9 (GA:RSM), 20% RSM, 30% RSM, 20% GA and It refers to 30% GA capsules.)

SONUÇ ve ÖNERİLER

Probiyotikler olumsuz çevre koşullarında ve gıda işleme esnasında yapılan muameleler sonucu canlılıklarını kaybedebilmektedir. Bu koşullarda canlılığın artırılması için enkapsülasyon teknolojisi uygulamaları son yıllarda yaygınlaşmıştır. Bu yöntemlerin ana prensibi mikroorganizmanın fiziksel bir bariyer ile desteklenmesidir.

Bifidobacterium bifidum BB12 suşunun liyofilizasyon metodu ile enkapsüle edilmesi sonucu oluşturulan kapsüller mikroorganizmanın ısıl direncini artırıcı etki göstermiştir. Oluşturulan kapsüllerden %20 yağsız süt tozu ve %20 gam arabik kapsülü hariç diğer tüm kapsüller 70°C’de probiyotik özelliği korumuşlardır. Kapsüle edilmemiş mikroorganizmalarda ise 60°C’den sonra hızlı bir canlılık kaybı gözlemlenmiştir. Puding özelinde duruma bakıldığında son ürün probiyotik özellik göstermemektedir. Fakat daha ılımlı ısıl işlem uygulanan gıdalarda oluşturulan kapsüllerin başarı ile uygulanabileceği görülmektedir. Buna ilaveten başlangıç konsantrasyonunun yüksek tutulmasına bağlı olarak ısıl dayanımın daha iyi olup olmayacağı ileri vadede yapılacak çalışma konularımızdan birisi olacaktır. Kapsüllerin depolama dayanımlarına bakıldığında canlılığın çok yüksek oranda korunduğu ve depolama sıcaklığına bağlı olarak bu dayanımın değişkenlik gösterebileceği saptanmıştır. Tüm kapsüller +5°C’de 1 ay depolandığında probiyotik özelliklerini muhafaza etmişlerdir. Gam arabik bireysel olarak kullanıldığı kapsüllerde 25°C’de depolama dayanımının düşük olduğu diğer kapsüllerin ise probiyotik özelliğini koruduğu gözlemlenmiştir. Planlanan sonraki çalışmalarda depolama süresi uzatılarak probiyotik ürünün raf ömrü belirlenecektir. Çalışmanın diğer bir

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

katma değeri oluşturulan kapsüllerin son üründe duyusal anlamda olumsuz bir etkisinin olmamasıdır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma lisans tezi çalışması olup TÜBİTAK 2209 /A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destek Programı kapsamında desteklenmiştir. Proje numarası: 1919B011902932.

KAYNAKLAR

Akgül, A. (2018). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve İnülin İçeren Sinbiyotik Sütü Çikolataların Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi (Tez no: 520640). Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Anonim (2008): *Türk gıda kodeksi koyulaştırılmış süt ve süttozu tebliği (tebliğ no: 2005/18 2008/51)* 3 Eylül 2008 Tarih ve 26986 Sayılı Resmî Gazete, Ankara

Arslan-Tontul, S. & Erbas, M. (2017). Single and Double Layered Microencapsulation of Probiotics by Spray Drying and Spray Chilling. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 81, 160-169. <https://doi.org/10.1016/J.Lwt.2017.03.060>

Barajas-Álvarez, P., González-Ávila, M. & Espinosa-Andrews, H. (2021). Recent Advances in Probiotic Encapsulation to Improve Viability under Storage and Gastrointestinal Conditions and Their Impact on Functional Food Formulation. *Food Reviews International*, 1-22. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1928691>

Camargo, V. P., Catanio, N., de Marins, A. R., de Cássia Bergamasco, R., Gomes, R. G. & Feihmann, A. C. (2021). The Physicochemical and Sensory Characteristics of Coppa with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (BB12) Probiotic. *Acta Scientiarum. Technology*, 43 (1), e55119.

<https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v43i1.55119>

Çalışkan, H. (2021). *Probiyotik Bakteri (Lactobacillus acidophilus) ve İğde (Elaeagnus angustifolia L.) Unu ile Üretilen Yoğurtların Probiyotik Raf Ömrü ve Kalite Özellikleri (Tez no: 654510)*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Çelik, E. (2017). *Emülsiyon Polimerizasyonu ile Lactobacillus reuteri Dsm 17938 Suşunun Enkapsülasyonu ve Gastrointestinal Dayanımı (Tez no: 473139)*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Çelik, E. ve Turgay, Ö. (2021). Encapsulation and gastrointestinal endurance of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 strain with emulsion polymerization. *African Journal of Food Science*, 15(9), 322-328. <https://doi.org/10.5897/AJFS2021.2110>

Çevik, K. (2017). *Palm Yağı ve Fraksiyonlarının Püskürtmeli Kurutucu ile Mikroenkapsülasyonu (Tez no: 476134)*. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Derzashamshir, M. (2017). *Kazeinomakropeptid İçeren Puding Formülasyonunun Geliştirilmesi (Tez no: 486549)*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Pinto, S. S., Muñoz, I. B. & Amboni, R. D. M. C. (2013). Effect of Microencapsulation on Survival of *Bifidobacterium* BB-12 Exposed to Simulated Gastrointestinal Conditions and Heat Treatments. *Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie - Food*

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

- Science and Technology*, 50(1), 39-44. <https://doi.org/10.1016/J.Lwt.2012.07.037>
- Geniş, B. & Tuncer, Y. (2019). Probiyotik Kültürlerin Mikroenkapsülasyonunda Kullanılan Farklı Kaplama Materyalleri ve Yöntemler. *GIDA*, 44, (6), 1222-1236. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19087>
- Gul, O. (2017). Microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota by Spray Drying Using Different Combinations of Wall Materials and Application for Probiotic Dairy Dessert. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5). <https://doi.org/10.1111/Jfpp.13198>
- Gul, O. & Atalar, I. (2019). Different Stress Tolerance of Spray and Freeze Dried *Lactobacillus casei* Shirota Microcapsules with Different Encapsulating Agents. *Food Science and Biotechnology*, 28(3), 807–816. <https://doi.org/10.1007/S10068-018-0507-X>
- Gurmeric, V. E., Dogan, M., Toker, O. S., Senyigit, E. & Ersoz, N. B. (2013). Application of Different Multi-Criteria Decision Techniques to Determine Optimum Flavour of Prebiotic Pudding Based on Sensory Analyses. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2844-2859. <https://doi.org/10.1007/S11947-012-0972-9>
- Hayatoğlu, F. (2021). *Probiyotik Bakteri İlavesi ile Üretilen Ayrarların Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri (Tez no: 656515)*. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Barin, J. S., Moraes Flores, É. M., Muller, E. I., Codevilla, C. F., Jacob-Lopes, E., Ferreira Grosso, C. R. & De Menezes, C. R. (2017). Production of Microcapsules Containing *Bifidobacterium* BB-12 by Emulsification/Internal Gelation. *Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 76, 216-221. <https://doi.org/10.1016/J.Lwt.2016.07.013>
- Ji, R., Wu, J., Zhang, J., Wang, T., Zhang, X., Shao, L., Chen, D. & Wang, J. (2019). Extending Viability of *Bifidobacterium longumin* Chitosan-Coated Alginate Microcapsules Using Emulsification and Internal Gelation Encapsulation Technology. *Frontiers in Microbiology*, 10(Jun), 1-10. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2019.01389>
- Kanat, S. & Gülel, G. T. (2021). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *Aydın Gastronomy*, 5(1), 81-89. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aydingas/issue/60049/773013>
- Karagül, M. S. & Altuntaş, B. (2018). Liyofilizasyon: Genel Proses Değerlendirmesi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(1), 62-69. <https://doi.org/10.35864/Evmd.513002>
- Kılınç, M. (2021). *Mikroenkapsüle L. acidophilus ilave edilerek üretilen dondurmaların depolanması sırasında bazı fizikokimyasal tekstürel termal ve mikroyapısal özelliklerindeki değişimlerin belirlenmesi (Tez No:686215)*. Doktora Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Musa, H. H., Ahmed, A. A. & Musa, T. H. (2019). Chemistry, Biological, and Pharmacological Properties of Gum Arabic. *Reference Series in Phytochemistry*, 797-814. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_11
- Novik, G. & Savich, V. (2020). Beneficial Microbiota. Probiotics and Pharmaceutical Products in Functional Nutrition and Medicine. *Microbes and Infection*, 22(1), 8-18. <https://doi.org/10.1016/J.Micinf.2019.06.004>
- Petraitytė, S. & Šipailienė, A. (2019). Enhancing Encapsulation Efficiency of Alginate Capsules Containing Lactic acid Bacteria by Using Different Divalent Cross-Linkers Sources. *Lebensmittel* -

Isıl İşlemin Enkapsüle Edilmiş ve Edilmemiş *Bifidobacterium Bifidum* BB-12 Üzerine Etkisi ve Model Gıdada Denemesi

- Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 110, 307-315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.065>
- Shori, A. B. (2017). Microencapsulation Improved Probiotics Survival During Gastric Transit. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(1), 1-5. <https://doi.org/10.1016/J.Hjb.2016.12.008>
- Silva, M. P., Tulini, F. L., Matos-Jr, F. E., Oliveira, M. G., Thomazini, M. & Fávaro-Trindade, C. S. (2018). Application of Spray Chilling and Electrostatic Interaction To Produce Lipid Microparticles Loaded with Probiotics as an Alternative to Improve Resistance Under Stress Conditions. *Food Hydrocolloids*, 83, 109-117. <https://doi.org/10.1016/J.Foodhyd.2018.05.001>
- da Silva, T. M., Lopes, E. J., Codevilla, C. F., Cichoski, A. J., de Moraes Flores, É. M., Motta, M. H. & de Menezes, C. R. (2018). Development and Characterization of Microcapsules Containing *Bifidobacterium* BB-12 Produced by Complex Coacervation Followed by Freeze Drying. *Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 90, 412-417. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.057>
- SPSS, (2019). IBM SPSS Statistics v26 for Windows.
- Tontul, S. A. (2017). *Probiyotik Mikroorganizmaların Püskürterek Dondurma ve Kurutma Teknikleriyle Mikroenkapsüle Edilerek Probiyotik Kek Üretiminde Kullanım İmkanlarının Araştırılması (Tez no: 468029)*. Doktora Tez, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Juárez-Trujillo, N., Jiménez-Fernández, M., Franco-Robles, E., Beristain-Guevara, C. I., Chacón-López, M. A. & Ortiz-Basurto, R. I. (2021). Effect of three-stage encapsulation on survival of emulsified *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* during processing, storage and simulated gastrointestinal tests. *Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110468>
- Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z., Bozdoğan, A. & Aslan, Z. (2017). Farklı Kaplama Materyali ile Kaplanmış *Lactobacillus rhamnosus*'un Termal İnaktivasyon Kinetiği. *Gıda ve Yem Bilimi -Teknoloji Dergisi. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 0 (17), 12-20. <https://dergipark.org.tr/en/pub/bursagida/issue/40136/476223>