

PROBİYOTİK KÜLTÜRLERİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN FARKLI KAPLAMA MATERYALLERİ VE YÖNTEMLER

Burak Geniş*, Yasin Tuncer

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 30.05.2019; Kabul / Accepted: 31.10.2019; Online baskı / Published online: 27.11.2019

Geniş, B., Tuncer, Y. (2019). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler. *GIDA* (2019) 44 (6) 1222-1236 doi: 10.15237/gida.GD19087

Geniş, B., Tuncer, Y. (2019). *Different coating materials and methods used in microencapsulation of probiotic cultures. GIDA* (2019) 44 (6) 1222-1236 doi: 10.15237/gida.GD19087

ÖZ

Fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik bakteriler, insan sağlığını destekleme ve sürdürmede önemli rol oynayabilmektedir. Probiyotik kültürlerin bu ürünlerde sağladıkları avantajların yanı sıra kullanımlarını sınırlandıran bazı faktörler de bulunmaktadır. Probiyotik kültürlerin gıda ortamında çevresel koşullardan etkilenmeleri ve canlılıklarını uzun süre koruyamamaları en önemli dezavantajlarıdır. Son yıllarda, probiyotik kültürlere olumsuz çevresel koşullara karşı koymaları için fiziksel bir bariyer oluşturulması sıklıkla uygulanan bir yöntem haline gelmiştir. Probiyotik kültürlerin korunmasına yönelik mikroenkapsülasyon yöntemleri, bu mikroorganizmaların gıda ürünlerinde ve gastrointestinal sistemde canlı kalma oranlarını büyük ölçüde arttırmaktadır. Ek olarak mikroenkapsülasyon probiyotik kültürlerin istenilen zamanda ve bölgede kontrollü salınımını sağlayarak kültürün etkinliğini güçlendirmektedir. Bu derlemede, probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve mikroenkapsülasyon yöntemleri özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Probiyotik kültür, mikroenkapsülasyon, kaplama materyali, mikroenkapsülasyon yöntemleri

DIFFERENT COATING MATERIALS AND METHODS USED IN MICROENCAPSULATION OF PROBIOTIC CULTURES

ABSTRACT

Probiotic bacteria used in the production of functional foods may play an important role in the promote and maintenance of human health. In addition to the provide advantages of probiotic cultures in these products, there are some factors that limit their use. The most important disadvantages of probiotic cultures that they are affected by enviromental conditions in food and can not maintain their viability for a long time. In recent years, the creation of physical barrier to counteract adverse enviromental conditions of probiotic cultures has become a frequently applied method. Microencapsulation methods for protection of probiotic cultures greatly increase their survival in food products and gastrointestinal tract. In addition, microencapsulation enhances the efficiency of the culture by providing controlled release of probiotic cultures at the desired time and site. In this review, coating materials and microencapsulation methods used for microencapsulation of probiotic cultures were summarized.

Keywords: Probiotic culture, microencapsulation, coating material, microencapsulation techniques

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉ burakgenis@hotmail.com

☎ (+90) 246 211 1713

☎ (+90) 246 237 0437

GİRİŞ

Günümüz toplumlarında tüketicilerin sağlıklı gıda tüketim bilincinin artması, tüketim tercihlerinin ve davranışlarının değişmesine neden olmaktadır (Varhan ve Koç, 2018). Gün geçtikçe birçok tüketici gıdaların sadece beslenme amacıyla tüketilmesinin yerine, daha doğal gıdalar ile beslenerek gıda kaynaklı hastalıklara karşı korunmak ve güvenli gıdalara erişebilmeyi arzu etmektedir (Đorđević vd., 2015; Turasan vd., 2015). Değişen üretim koşulları, tüketici talepleri ve bu alanda artan pazar doğrultusunda gıda endüstrisinde güvenli ve sağlıklı gıda üretimi önem kazanmıştır (Rocha vd., 2017; Varhan ve Koç, 2018). Bu bağlamda gıda endüstrisi ve araştırmalar, sağlık üzerine olumlu etki gösteren doğal bileşenler ile takviye edilen gıdalara yönelmiştir. Bu gıdalar genel olarak fonksiyonel gıdalar olarak adlandırılmaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Fonksiyonel gıdalar temel beslenme ihtiyacı için gerekli olan besin bileşenlerini karşılamanın yanında insan metabolizması üzerine olumlu etki göstererek hastalık riskini azaltan gıdalar ya da gıda içerisinde bulunan bileşenler olarak tanımlanmaktadır (Altun ve Özcan, 2013). Dünya genelindeki fonksiyonel gıda pazarının büyük bir kısmını, tek veya karışık kültürlerden oluşan antimikrobiyal aktiviteye sahip, ürün kalitesini artırıcı özellik gösteren ve insan sağlığına fayda sağlayan probiyotik kültürlerin kullanımı ile üretilen fonksiyonel gıdalar oluşturmaktadır (Soccol vd., 2014; Espitia vd., 2016; Li vd., 2016; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018; Arepally ve Goswami, 2019). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından probiyotikler, canlıların sindirim sisteminde yeterli sayıda ve canlılıkta bulduklarında konak sağlığı üzerine olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Kumar vd., 2015; Martín vd., 2015; De Prisco ve Mauriello, 2016; Espitia vd., 2016; Arslan-Tontul ve Erbas, 2017; Roshanzamir vd., 2017; Shori, 2017; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018). Probiyotik bakterilerin konakta fayda sağlayabilmesi için tüketim öncesi üründe minimum 10^6 - 10^8 kob/g veya mL düzeyinde bulunmasının yanı sıra düzenli olarak tüketilmesi, patojen ve toksik etki göstermemesi, mide ortamını geçerek hayatta kalması, safra asitlerine

karşı dayanıklı olması, bağırsaklara büyük miktarda ulaşarak kolonileşmesi ve metabolik aktivitesine devam etmesi gerekmektedir (Dianawati vd., 2016; De Prisco vd., 2017; Pandey ve Vakil, 2017; Uran vd., 2017; Wang vd., 2019). Bunlarla birlikte probiyotik mikroorganizmaların canlılığı üzerine pH, hidrojen peroksit, oksijen, depolama sıcaklığı gibi faktörlerin de etki gösterdiği bilinmektedir (Martín vd., 2015). Probiyotik kültürlerin gıda endüstrisinde kullanımlarını kısıtlayan bir başka faktör ise proses basamaklarında mikroorganizmanın canlılık oranını etkileyen yöntemler kullanılması ve bu nedenle probiyotik kültürlerin stabilitesini kaybetmesidir (Uran vd., 2017). Günümüzde probiyotik kültürlerin konak sindirim sistemine yerleşmesi ve canlılığını sürdürmesini engelleyebilecek olumsuz etmenlere karşı direnç kazanmaları için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında asit ve safraya dirençli suşların seçimi, oksijen geçirmeyen ambalajların kullanımı, iki aşamalı fermantasyon, stres adaptasyonu, peptit ve amino asit içeren mikrobeseinlerin ilave edilmesi ve mikroenkapsülasyon sıklıkla tercih edilmektedir (Martín vd., 2015; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018). Son yıllarda yapılan araştırmalar probiyotik kültürlerin stabilitesi ve konakta sağladıkları fayda oranını arttırmak için mikroenkapsülasyon yönteminin kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır (Martín vd., 2015; Dianawati vd., 2016; Espitia vd., 2016; Pandey ve Vakil, 2017; Kavitate vd., 2018; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018; Arepally ve Goswami, 2019; Singh vd., 2019)

Mikroenkapsülasyon

Enkapsülasyon, bir maddenin dış etkenlerden korunması ve istenilen koşullarda açığa çıkabilmesi için özel şartlar altında nano ($\leq 0,2$ μm), mikro (0,2-5000 μm) ve makro (≥ 5000 μm) boyutlardaki bir koruyucu kaplama maddesi ile kaplanması veya bir taşıyıcı materyale bağlanması prensibine dayalı bir yöntemdir (Çakır, 2006; Paulo ve Santos, 2017; Roshanzamir vd., 2017; Sarao ve Arora, 2017; Kavitate vd., 2018). Enkapsülasyon işlemi farklı yöntemler kullanılarak uygulansa da temel olarak üç aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada biyoaktif

bileşen katı veya sıvı matris içersine dâhil edilir. İkinci aşamada sıvı matris dispersiyonu sağlanır ve son aşamada fiziksel (buharlaştırma, katılaştırma vb.), kimyasal (polimerizasyon) veya fizikokimyasal (jelifikasyon) bir yöntemle stabilize edilerek enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilir (Sarao ve Arora, 2017). Enkapsülasyon işlemi uygulanan aktif madde çekirdek materyal (core material) olarak tanımlanır ve çözünmüş veya disperse olmuş sıvı veya katı yapıda olabilir. Ana maddenin içinde dağıldığı koruyucu matris yapısı için kaplama, kapsül, duvar veya kabuk gibi benzer tanımlar kullanılır (Dianawati vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017). Mikroenkapsülasyon işlemi sonrası meydana gelen mikrokapsüllerin genellikle çapları 0.01 ve 1.000 µm aralığında iken, aktif malzemenin üzerini kaplayan duvar kalınlığı ise 0.5-150 µm olmaktadır (Peanparkdee vd., 2016). Mikroenkapsülasyon yöntemi sonucu elde edilen ürünler mikropartiküller olarak bilinmektedir. Mikropartiküller için kullanılan mikroküre ve mikrokapsül terimleri eşanlamlı gibi gözükse de, içyapıları ve morfolojileri sayesinde farklılık göstermektedir (Paulo ve Santos, 2017). Çekirdek materyal, duvar materyali ve mikroenkapsülasyon tekniğinin çeşitli özelliklerine göre farklı partiküller elde edilebilmektedir. Morfolojilerine göre mikrokapsüller tek çekirdekli (mononuclear), çok çekirdekli (poly/multinuclear), matris (matrix), çok katlı (multi-wall) ve düzensiz (irregular) olarak tanımlanabilmektedir (Peanparkdee vd., 2016). Mikroenkapsülasyon yöntemi günümüzde ilaç (%68), gıda (%13), kozmetik (%8), tekstil (%5), biyomedikal (%3), tarım (%2) ve elektronik (%1) gibi farklı sanayi dallarında sıklıkla kullanılmaktadır (Paulo ve Santos, 2017). Enkapsülasyon yönteminin farklı endüstri alanlarındaki temel kullanım amaçlarından bazıları; istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması, sıvı bileşimin katı forma dönüştürülmesi, çevresel kaynaklı olumsuzlukların minimize edilmesi, mikroenkapsülasyon işlemi ile üründe tat ve kokunun maskelenmesi, aktif bileşiklerin uçucu özelliklerinin baskılanması, mikroenkapsüle ürünün hedeflenen zamanda kontrollü olarak salınımının gerçekleştirilmesi, kaplanmış çekirdek materyalinin farklı bileşenler ile etkileşime girmesinin engellenmesi, ürünlerin daha rahat

taşınması ve uzun süreli depolanması gibi fayda sağlayacak özelliklerin elde edilmesidir (Sagis, 2015; Wani vd., 2016). Mikroenkapsülasyon uygulamalarının başarısı, koruma altına alınacak aktif materyalin hangi teknik ve kaplama materyali kullanılarak enkapsüle edileceği ile ilgilidir. Günümüzde laktik asit bakterileri ve probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda farklı yapı ve özellikler taşıyan aljinatlar, peynir altı suyu proteinleri, nişasta, karregen, selüloz asetat fitalat (CAP), kitosan, jellan ve ksantan gam, jelatin ve nohut proteinleri gibi bazı kaplama materyalleri kullanılmaktadır. Mikroenkapsülasyon işleminde bu kaplama materyalleri ekstrüzyon, emülsiyon, akışkan yatak, rennet ile jelleştirilmiş protein, dondurarak kurutma, püskürtmeli kurutma, hibridizasyon, çarpışmalı aerosol teknolojisi ve elektrodondürme (elektrospinning) yöntemleri ile uygulanabilmektedir (Martín vd., 2015; Kavitate vd., 2018). Laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve enkapsülasyon yöntemleri Çizelge 1’de verilmiştir.

Mikroenkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri

Mikroenkapsülasyon işleminin başarılı olabilmesi için ürüne ve kullanılacak tekniğe uygun kaplama materyali seçimi çok önemlidir. Genel olarak tercih edilen kaplama materyalleri toksik olmamalı, GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) özellikte olmalı, kaplama işlemi sırasında kolay işlenebilmeli, inert olmalı, aktif materyal ile uygulama sırasında ve sonrasında materyalin özelliğini etkileyecek reaksiyonlara girmemeli ve aktif materyalin stabilitesini arttırmalı, aktif materyali beklenen çevresel etkilerden koruyabilmeli, beklenen zamanda aktif materyalin salınımı için uygun yapıda olmalı ve yüksek maliyete sahip olmamalıdır (Azagheswari vd., 2015; Giro-Paloma vd., 2016; Atak vd., 2017; Başyigit vd., 2017; Suganya ve Anuradha, 2017; Ramani ve Ramani, 2018). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali olarak polisakkarit (aljinat, ksantan gam, karragenan, nişasta ve türevleri, vb.), protein (jelatin ve süt proteinleri vb.) ve lipit (süt yağı, kakao yağı ve hidrojene yağ, vb.) bazlı bileşikler

kullanılmaktadır (Chen vd., 2017). Günümüzde probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda polisakkarit bazlı kaplama materyallerinden aljinatlar, nişasta, karregen, jellan gam, ksantan gam ve kitosan kullanılırken, protein bazlı

kaplama materyallerinden ise peynir altı suyu proteinleri, jelatin, nohut proteinleri ve selüloz asetat fitalat gibi bileşikler kullanılabilir (Martín vd., 2015; Chen vd., 2017; Kavıtak vd., 2018).

Çizelge 1. Laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve enkapsülasyon yöntemleri

Bakteri	Enkapsülasyon yöntemi	Kaplama materyalleri	Kaynak
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-05)	Püskürtmeli kurutma	Selüloz asetat fitalat	Fávaro-Trindade ve Grosso (2002)
<i>Bifidobacterium lactis</i> (Bb-12)	Püskürtmeli kurutma	Peynir altı suyu proteinleri	Picot ve Lacroix (2004)
<i>Bifidobacterium brevis</i> R070	Püskürtmeli kurutma	Sodyum aljinat ve modifiye nişasta	Kailasapathy (2006)
<i>Bifidobacterium longum</i> R023	Emülsiyon	Ksantan gam-jellan gam	Jiménez-Pranteda vd. (2009)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Emülsiyon	Sodyum aljinat ve modifiye nişasta	Kailasapathy (2006)
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Emülsiyon	Sodyum aljinat ve modifiye nişasta	Kailasapathy (2006)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC53103™	Ekstrüzyon	Ksantan gam-jellan gam	Jiménez-Pranteda vd. (2009)
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC BAA-999™	Ekstrüzyon	Ksantan gam-jellan gam	Jiménez-Pranteda vd. (2009)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	Liyofilizasyon	Sodyum aljinat ve peynir altı suyu proteinleri	Gbassi vd. (2010)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 800y	Liyofilizasyon	Sodyum aljinat ve peynir altı suyu proteinleri	Gbassi vd. (2010)
<i>Lactobacillus plantarum</i> CIP A159	Liyofilizasyon	Sodyum aljinat ve peynir altı suyu proteinleri	Gbassi vd. (2010)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Ekstrüzyon	Peynir altı suyu proteinleri	Doherty vd. (2012)
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Püskürtmeli kurutma	Jelatin, peynir altı suyu protein konsantresi, modifiye nişasta, maltodekstrin, bezelye proteini, gam Arabik	Arslan vd. (2015)
<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM17938	Vibrasyon	Kitosan-aljinat	De Prisco vd. (2015)
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Emülsiyon	Nohut proteini-aljinat	Wang vd. (2014)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	Dondurarak kurutma	Mısır nişastasası	Li vd. (2016)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC4356	Akışkan yatak	Sodyum aljinat-karragenan	Afzaal vd. (2018)
<i>L. lactis</i> subsp <i>cremoris</i> MG1363 (pExu:mCherry)	Ekstrüzyon	Sodyum aljinat	Coelho-Rocha vd. (2018)

Polisakkarit Bazlı Kaplama Materyalleri Aljinatlar

Aljinatlar farklı türlerdeki alglerin hücre duvarlarından ekstrakte edilen, L-guluronik asit ve D-mannuronik asit olmak üzere iki monomerden

oluşan doğrusal heteropolisakkaritlerdir (Martín vd., 2015; Wani vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017; Albadran vd., 2018). Mikroenkapsülasyon işleminde destek malzeme olarak kullanılan aljinatların; toksik özellik göstermemesi,

ekonomik ve kolay bulunur olması, yüksek stabiliteye sahip jeller oluşturması, alkali tampon çözeltide kolaylıkla ortaya çıkması ve kalsiyum klorür ile probiyotik bakteriler gibi hassas materyallerin kaplanmasında hafif matriksler oluşturması gibi avantajları bulunmaktadır (Gökbulut ve Öztürk, 2018; Ramani ve Ramani, 2018). Fakat aljinatların tek başlarına asit ortama karşı duyarlı olması, çevresel faktörlerden etkilenerek koruyucu özelliğinin azalması, gözenekli boncuk yüzeyi oluşması ve büyük ölçekli üretime çok uygun olmayışı aljinatların kullanımını kısıtlayan önemli faktörlerdir (Gökbulut ve Öztürk, 2018; Marcial-Coba vd., 2019). Bu dezavantajlarına karşın daha dayanıklı kaplama materyali elde etmek için aljinatların kitosan, nişasta, karregen, pektin veya sentetik polimerler ile birlikte kullanılabilmesi belirtilmektedir (Dordevic' vd., 2015). Aljinatlar mikroenkapsülasyon yöntemleri arasında genellikle ekstrüzyon yönteminde kullanılmaktadır (Martín vd., 2015). Coelho-Rocha vd. (2018), mCherry floresans proteini kodlayan pExu vektörü taşıyan rekombinant *L. lactis* subsp. *lactis* MG1363 suşunu geliştirdikleri ve %1 sodyum alginat kullanarak ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsüle ettikleri çalışmalarında, enkapsüle edilmiş ve edilmemiş suşları C57BL/6 farelerine ağız yoluyla uygulamışlar ve farklı zamanlarda (0-168 saat) ve farklı bağırsak kısımlarında mCherry protein ekspresyon düzeyini ölçmüşlerdir. Konfokal mikroskopik sonucu enkapsüle suş uygulanan hayvanlarda mCherry protein ekspresyonunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları qRT-PCR ile desteklemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, mikroenkapsülasyonun bağırsağın farklı bölümlerine yüksek sayıda canlı hücre ulaşmasında etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Nişasta ve Türevleri

Nişasta çok sayıda α -D glikoz birimlerinin glikozidik bağlar yoluyla birleşmesi sonucu oluşan bir polisakkarittir. Pankreas enzimleri tarafından ince bağırsakta sindirilemeyen nişasta dirençli nişasta olarak tanımlanmaktadır. Dirençli nişasta sindirilmeden fermente olduğu kalın bağırsağın kolon bölümüne ulaşmaktadır. Dirençli nişastanın

bağırsağa ulaşması kalın bağırsakta bakteriyel hücrelerin daha iyi salınmasını sağlamaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Bu sebeple dirençli nişasta probiyotik hücrelerin bağırsaklara ulaşmaları için mikroenkapsülasyon yöntemlerinde kaplama materyali olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Li vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017; Marcial-Coba vd., 2019). Li vd. (2016), doğal ve kısmi hidrolize edilmiş mısır nişastasında dondurarak kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik *Lactobacillus plantarum* 299v suşunun asit, safra tuzu ve ısı uygulamalarında hayatta kalma düzeyini araştırmışlardır. Enzimatik hidroliz ile doğal mısır nişastasında bulunan oyuk ve kanalların büyüdüğü ve böylece probiyotik hücre yükleme kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin asit toleranslarının serbest hücrelere göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar poröz mısır nişastası granüllerinin yüksek probiyotik yükleme kapasitesi olduğunu ve farklı stres koşullarında serbest hücrelere gelişmiş koruma sağladığını göstermiştir.

Karregen

Karregen kırmızı deniz yosunlarından elde edilen hidrofilik, nötr bir polisakkarit olup, gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılan doğal bir polimerdir. Karregenlar genellikle sıcak alkali özütleme işlemi ile deniz yosunu hücrelerinden elde edilmektedir (Martín vd., 2015; Chakraborty, 2017). Karregen kokuların ve aromaların stabilitesine olumlu katkıda bulunması nedeni ile gıda ve kozmetik formülasyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Chakraborty, 2017). Altı türü bulunan karregen polimeri arasında enkapsülasyon uygulamalarında en sık kullanılan α -karregenandır. Karregen ucuz olması ve biyopolimer özellik göstermesi, enkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak tercih edilmesine sebep olmaktadır (Martín vd., 2015; Chakraborty, 2017). Bunun yanı sıra probiyotik hücrelerin mikroenkapsülasyonunda karregen boncuklarının tercih edilmesinde, karregen mikroorganizmanın canlılığına olumlu etki göstermesi ve yoğurt gibi fermente ürünlerdeki organik asitlere karşı düşük duyarlılığa sahip olması da etkin rol oynamaktadır (Martín vd.,

2015; Sarao ve Arora, 2017). Karregen kaplama materyali olarak daha çok emülsiyon ve ekstrüzyon yöntemlerinde kullanılmaktadır (Kavitate vd., 2018). Afzaal vd. (2018), probiyotik *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 suşunu sodyum aljinat ve karragenan polisakaritleri ile enkapsüle ederek dondurmada ve yapay sindirim sistemi şartlarında canlı kalabilme yeteneğini araştırmışlardır. Araştırmacılar enkapsülasyon uygulamasının dondurmada ve yapay sindirim sistemi şartlarında probiyotik hücrelerin hayatta kalma düzeyini serbest hücrelere nazaran önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Jellan Gam ve Ksantan Gam

Mikrobiyal bir polisakarit olan jellan gamı *Pseudomonas elodea*'dan elde edilmektedir. Jellan gamı glikoz, glukuronik asit, glikoz ve ramnozun oluşturduğu dört monomerin kendisini tekrarlaması ile meydana gelmektedir (Sarao ve Arora, 2017). Negatif yüklü bir ekzopolisakarit olan jellan gamı doğada biyolojik olarak çözünebilir ve toksik değildir. Jellan gamı metal iyonlarının varlığında sert ve yarı saydam jel üretir. Bu jel düşük pH'da kararlıdır. Bununla birlikte, jellan gam zayıf mekanik dayanıma, fizyolojik koşullarda zayıf kararlılığa ve yüksek jelleşme sıcaklığına sahiptir (Zia vd., 2018). Ksantan gam heteropolimer yapıda, glikoz, mannoz ve glukuronik asit monomerlerinden oluşan, *Xanthomonas campestris* bakterisi kullanılarak elde edilen mikrobiyal bir ekzopolisakarittir (Habibi ve Khosravi-Darani, 2017; Sarao ve Arora, 2017). Bu iki materyalin mikroenkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak ayrı ayrı ve birlikte kullanılmalarının dışında farklı materyallerle kombine kullanımları da bulunmaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali olarak aljinat yerine ksantan-jellan gam karışımının kullanılması, kapsüllenmiş hücrenin asidik ortamda dayanımını arttırmaktadır (Kavitate vd., 2018). Jiménez-Pranteda vd. (2009), jellan gam ve ksantan gam karışımı ile *Lactobacillus rhamnosus* ATCC53103TM ve *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999TM probiyotik kültürlerini ekstrüzyon yöntemi kullanarak mikroenkapsüle etmiş ve yapay sindirim sistemi koşullarında serbest ve enkapsüle

hücrelerin hayatta kalma düzeyleri incelenmiştir. Safra tuzu uygulaması enkapsüle edilmemiş *Lactobacillus* sayısında ilk iki saat süresince 3 log kob düşmeye neden olurken, enkapsüle hücrelerde 1 log kob düşüşüne neden olmuştur. *Bifidobacterium*'da ise enkapsüle edilen hücrelerin enkapsüle edilmemiş hücrelere göre sindirim sistemi koşullarına direncinin düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bifidobakterler ile enkapsülasyonda kullanılan polimerler arasında negatif etkileşimin olduğunu belirtmişlerdir.

Kitosan

Kitosan genellikle kabuklu deniz canlılarının kabuk kısımlarından ekstrakte edilen kitinin deasetilasyonu yoluyla elde edilen pozitif yüklü doğrusal bir polisakarittir (Martín vd., 2015; Wani vd., 2016; Rocha vd., 2017; Huo vd., 2018; Kavitate vd., 2018; Ramos vd., 2018). Kitosan, çözeltelerde stabilite artırıcı, antimikrobiyal ve antioksidan aktivite güçlendirici özelliklerinin yanı sıra ucuz ve yenilebilir olması nedeni ile ilaç ve gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Rocha vd., 2017). Ayrıca kitosan yapısı gereği pH'nın 6'dan düşük olduğu ortamlarda suda çözünebilmektedir. Kitosan, aljinatlar gibi anyon ve polianyonların etkisi ile çapraz bağ kurarak polimerize olmakta ve jel yapma potansiyeli bulunmaktadır (Martín vd., 2015; Sarao ve Arora, 2017). Kitosanın katyonik davranışı ve asidik ortama direnç göstermesi nedeniyle probiyotiklerin gastrointestinal koşullara karşı korunmasında avantaj sağladığını belirten çalışmaların bulunmasının yanı sıra hücrelerin canlılığını korumada düşük düzeyde etkili olduğunu belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Rocha vd., 2017; Ramos vd., 2018). De Prisco vd. (2015), kitosan ile kaplamanın *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşunun yapay mide ve bağırsak koşullarında hayatta kalma düzeyini geliştirdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar enkapsüle edilmiş bakterilerin sayısında önemli bir azalma olmaz iken, enkapsüle edilmemiş hücre sayısında 0.35 log kob'luk bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Graff vd. (2008) *Saccharomyces boulardii* hücrelerini kitosan ile kaplamışlar ancak önemli bir koruma sağlamadığını tespit etmişlerdir.

Protein Bazlı Kaplama Materyalleri Peynir Altı Suyu Proteinleri

Peynir üretimi sırasında ortaya çıkan sıvıdan elde edilen peynir altı suyu proteinleri, süt temelli globüler proteinlerin karışımından meydana gelmektedir. Bu proteinler çok çeşitli aktif moleküllerle etkileşime girme yeteneğine sahiptir. Bu durum konakçıda hedeflenen salınımlarından önce aktif moleküllerin korunması ve ters bağlanması için çeşitli imkanlar sunmaktadır (Martín vd., 2015). Süt proteinleri, yüksek besin değeri, çözelti içerisinde düşük viskozite, kolay çözünme, iyi emülsiyon gibi fonksiyonel özellikler göstermeleri nedeni ile enkapsülasyon uygulamalarında polimerik hidrojellere alternatif olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Kumar vd., 2018). Ayrıca jelleşme özelliklerinin çok iyi olması bakterilerin enkapsülasyon uygulamalarında kullanımlarına olanak sağlamaktadır. Bu özellikleri sayesinde peynir altı suyu proteinlerinin sulu çözeltilerinden elde edilen mikrokapsüller yüksek yoğunlukta jel yapı oluşturmaktadır. Ağa benzeyen bu jel yapı probiyotik mikroorganizmaları daha iyi koruyarak gıdalarda daha etkin kullanılmalarını sağlamaktadır (Abd El-Salam ve El-Shibiny, 2015). Peynir altı suyu proteinlerinin bu özellikleri sonucu, kaplama materyali olarak kullanıldıkları mikrokapsüle probiyotik kültürlerin, gastrointestinal geçiş sırasında canlı formda kalma potansiyelleri oldukça yüksektir (Ramani ve Ramani, 2018). Doherty vd. (2012), jelleşmiş peynir altı suyu boncuklarına tutuklanmış ve tutuklanmamış *Lactobacillus rhamnosus* GG hücrelerinin *ex vivo* domuz sindirim sisteminde (mide-alt karın, bağırsak-ileum ve çekum) hayatta kalma düzeylerini araştırmışlardır. Tutuklanmamış serbest hücreler midede (pH 3.4) 30 dakika inkübasyon sonunda hayatta kalamamış iken, tutuklanmış hücreler 180 dakika inkübasyon sonunda pH 3.4, 2.4 ve 2.0'da sırasıyla 5.7 ± 0.1 , 5.1 ± 0.2 ve 2.2 ± 0.2 log kob/mL düzeyinde canlı kalmışlardır. Elde edilen sonuçlar, protein mikroböcüklerine tutuklanmış hücrelerin asit direncinin arttığını (8.9 ± 0.1 log kob/mL), adsorpsiyon kapasitesinin yüksek olduğunu ve intestinal inkübasyonda 30 dakika içinde probiyotik hücrelerin kontrollü salınımının gerçekleştiğini göstermiştir. Araştırmacılar peynir

altı suyu mikroböcüklerinin biyoaktif bileşenlerin mikroenkapsülasyonunda bağlayıcı materyal olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Jelatin

Jelatin, kolajenin kısmi hidroliziyle elde edilen biyobozunur bir proteindir (Shaddel vd., 2018). Jelatin saf halde, yarı saydam, kırılğan, renksiz veya hafif sarı, tatsız ve kokusuz özelliindedir (Kavitake vd., 2018). Jelatin yüksek emülsifiye etme kapasitesi, sudaki çözünürlüğü, yüksek stabilize edici aktivitesi ve birincil amino grubu boyunca yüksek çapraz bağlama aktivitesi gibi özelliklere sahip olması nedeni ile mikroenkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak kullanılmaktadır (Shaddel vd., 2018). Jelatin amfoterik yapısı nedeniyle jellan gamı gibi anyonik polisakkaritlerle sinerjik etki gösterebilmektedir. Bu iki hidrokolloidin birbirlerini itme eğiliminde olması ve negatif yük taşımaları nedeniyle sadece 6'dan daha yüksek pH değerlerinde karışabilmektedirler. Bununla birlikte, karışımın pH'sı jelatinin izoelektrik noktasının altında ayarlandığı zaman jelatin üzerindeki net yük pozitif hale geçmekte ve negatif yüklü jellan gamı ile etkileşime girebilmektedir. Söz konusu karışım bazı gıdaların ve bakterilerin mikroenkapsülasyonunda destek materyali olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Sarao ve Arora, 2017). Arslan vd. (2015), püskürtmeli kurutma yöntemi ile *Saccharomyces boulardii* enkapsülasyonunda jelatin, peynir altı suyu protein konsantresi, modifiye nişasta, maltodekstrin, bezelye proteini ve gam Arabik'i kaplama materyali olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar yapay mide solüsyonunda farklı pH değerleri ve sürelerde *S. boulardii* hücrelerinin hayatta kalmasında en etkili kaplama materyalinin gam Arabik olduğunu bunu jelatin ve bezelye proteininin izlediğini tespit etmişlerdir.

Nohut Proteinleri

Baklagillerde yüksek miktarda değerli protein bulunmaktadır. Baklagil proteinleri yüksek besleyici özelliklerinin yanı sıra oksidasyon önleyici etkiye de sahiptir. Aynı zamanda nutrasötik madde ve fonksiyonel gıdalarda da başarıyla kullanılmaktadır. Nohut proteinlerinin biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonu için

kullanılmalarında ana itici güç, GRAS statüsünde olmaları ve baklagil türevli proteinlerin emülsifiye edici özelliklere sahip olmalarıdır (Sharif vd., 2018). Son yıllarda nohut proteinleri, fonksiyonel özellikleri, besinsel değerinin yüksek olması ve doğal olması nedeniyle mikroenkapsülasyon proseslerinde kaplama materyali olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Bu proteinlerin alerjenik özelliklerinin az olması mikroenkapsülasyon uygulamasında kullanılmasının bir başka temel sebebinin oluşturmaktadır. Nohutta bulunan başlıca proteinler tuzlu ortamda çözünebilen globülin tipi depolama proteinleri olan legumin ve visilindir (Wang vd., 2014; Martín vd., 2015). Wang vd. (2014), emülsiyon teknolojisi kullanarak nohut proteini-aljinat mikrokapsülleri geliştirmişlerdir. Araştırmacılar mikrokapsüllerin *Bifidobacterium adolescentis*'i yapay mide suyuna karşı koruduğunu ve nohut proteini-aljinat kapsüllerinin gıda uygulamaları için uygun bir probiyotik taşıyıcı görevi görebileceğini bildirmişlerdir.

Selüloz Asetat Fitalat (CAP)

Bu polimer yapıdaki bileşen, güvenilirliğinin yüksek seviyede olması sebebi ile bağırsaklarda ilaç salınımını kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır. Kullanılmasının temelindeki en büyük avantaj, pH'nın 5'den küçük olduğu kuvvetli asit ortamlarda çözünmemesine rağmen 6 ve 6'dan daha yüksek pH'larda çözünme potansiyeline sahip olmasıdır. Bu bağlamda, bakterilerin mikrokapsülasyonunda CAP kullanımı kolona çok sayıda canlı bakteriyel hücre taşınmasını sağlamaktadır (Sarao ve Arora, 2017; Kavıtake vd., 2018). Fávvaro-Trindade ve Grosso (2002), kaplama materyali olarak CAP kullanarak probiyotik *Lactobacillus acidophilus* (La-05) ve *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) suşlarını püskürtmeli kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişler ve serbest ve mikrokapsüle edilmiş probiyotik kültürlerin farklı pH ve safra tuzu konsantrasyonlarına dayanımlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar mikrokapsülasyon işleminin düşük pH'da kültürlerin korunmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Her iki bakteri içinde serbest hücrelerin asidik koşullarda 1 saat sonra elemine olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca, hem serbest hem de mikrokapsüle edilmiş *L. acidophilus* ve

B. lactis hücrelerinin 12 saat sonunda safra solüsyonuna dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon Yöntemleri

Gıda endüstrisi ürünlerin lezzet, renk ve doku gibi özelliklerini geliştirmenin yanı sıra raf ömrü gibi kalite kriterlerini de iyileştirmek için birçok fonksiyonel bileşen kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda tüketicilerin artan sağlıklı ürün talepleri probiyotik kültür ve doğal antimikrobiyal maddeleri daha da ilgi çekici hale getirmiştir. Bu bileşenlerin çoğunun düşük stabiliteye sahip olması çevresel faktörler tarafından kolaylıkla etkilenmelerine neden olmakta bu da sağlıklı gıda üretiminde kullanılmaları açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Bu sebeple gıda endüstrisi için yüksek stabiliteye sahip bileşenlerin hazırlanması önem kazanmıştır. Son yıllarda fonksiyonel gıdaların popülerliğinin artması ve yüksek verimli mikrokapsüllerin üretilmesi, mikroenkapsülasyon teknolojisinin kullanıldığı fonksiyonel bileşenlerin gıda sanayisinde kullanımını arttırmıştır (Peaparkdee vd., 2016). Ekstrüzyon tekniği, sprey kurutma, sprey dondurma veya sprey soğutma, ekstrüzyon kaplama, akışkan yatak kaplama, lipozomal tuzaklama, liyofilizasyon, koaservasyon, çift kapsülleme gibi yöntemler mikrokapsülasyon uygulamalarında kullanılmaktadır (Celli vd., 2015; Dordević vd., 2015; Mohan vd., 2015; Peaparkdee vd., 2016; Kavıtake vd., 2018; Quintero vd., 2018; Ramani ve Ramani, 2018). Bu derlemede probiyotik kültürlerin mikrokapsülasyonunda kullanılan farklı yöntemler ele alınmıştır.

Ekstrüzyon

Ekstrüzyon yöntemi, yüksek hücre canlılığı, düşük maliyet ve basit formülasyon gibi özellikleri sayesinde diğer mikrokapsülasyon yöntemlerine göre mikroorganizmaların enkapsülasyonunda daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Kavıtake vd., 2018). Ekstrüzyon yöntemi aktif materyali içeren hidrokolloid bir çözeltinin, şırınga iğnesi ile boncuklar halinde sertleştirme çözeltisine damlatılması sonucu katılaşması prensibine dayanmaktadır (Martín vd., 2015; Uran vd., 2017). Ekstrüzyon yöntemi genellikle gıda sanayinde düşük sıcaklıklarda uygulama gerektiren uçucu ve stabilitesi zayıf olan aroma maddelerinin mikrokapsülasyonu için

tercih edilmektedir (Altun ve Özcan, 2013). Bu yöntemde destek materyali olarak aljinat, peynir altı suyu proteinleri, pektin, süt ve insan kollejeni gibi bileşenler kullanılmaktadır. Yöntemin önemli avantajları: uygulamada organik çözücülere ihtiyaç duyulmaması, boncuk boyutunun ayarlanabilir olması ve oksijene karşı bariyer oluşturarak oksidasyon potansiyeli yüksek lezzet bileşenlerinin raf ömrünü uzatmasıdır (Martín vd., 2015). Ayrıca yöntemin uygulama basitliği, düşük maliyet ve uzun süreli hücre canlılığında stabilite sağlaması gibi önemli avantajları bulunmaktadır (Uran vd., 2017). Ekstrüzyon yönteminin dezavantajları ise mikrokapsül oluşum hızının düşük olması ve büyük çaplı damlacıklar (2 mm) elde edilmesi sonucu endüstriyel uygulamalarda yetersiz kalmasıdır (Đordevic' vd., 2015).

Emülsiyon

Emülsiyon yönteminde kesikli faz (hücre polimer süspansiyonu) büyük hacimdeki yağ (sürekli faz) içerisine eklenir ve yağ içerisinde su emülsiyonu elde etmek için karışım homojenize edilir. Yağ içerisinde su emülsiyonu oluştuğunda suda çözünür polimerler, yağ fazında çözünmeyen küçük jel yapıları oluşturmaktadır (Azagheswari vd., 2015; Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016; Giro-Paloma vd., 2016). Hazırlanan emülsiyonun iç fazındaki partiküllerin boyutunun küçüklüğü elde edilecek mikrokapsüllerin boyutunu değiştirmektedir. Oluşan damlacıklar filtrasyon yardımı ile sıvı çözeltiden uzaklaştırılmaktadır. Elde edilen damlacık boyutu çalkalama hızına bağlı olarak 25 µm ile 2 mm arasında değişmektedir (Heidebach vd., 2012). Gıda uygulamalarında sürekli faz olarak daha çok bitkisel yağlar (ayçiçeği, kanola, mısır, soya vb.) tercih edilmektedir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Daha iyi bir emülsiyon elde etmek için yüzey gerilimini azaltarak daha küçük parçaların oluşmasına yardımcı olan emülgatörlerde karışıma eklenmektedir. Karregen, sodyum karbosimetil selüloz, CAP, aljinat ve kombinasyonları, kitosan, jelatin, nohut proteini bu yöntemde kullanılan destek materyalleri arasında bulunmaktadır (Martín vd., 2015).

Akışkan Yatak

Akışkan yatak kaplama yöntemi gözenekli katılara absorbe edilen sıvıları içeren katı çekirdek

malzemelerin kapsüllemesi için kullanılmaktadır (Azagheswari vd., 2015). 1950'li yıllarda ilaç tabletlerin kaplanması için geliştirilen akışkan yatak kaplama yöntemi günümüzde gıda endüstrisinde katı maddelerin ve fonksiyonel materyallerin de enkapsülasyonu için kullanılan bir yöntem haline almıştır (Desai ve Park, 2005). Bu sistem hücre süspansiyonunun inert taşıyıcılar üzerine püskürtülerek kurutulması temeline dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Kaplanacak materyaller, kaplama odasına ısıtılan veya soğutulan hava yardımı ile taşınır. Partiküller odada oluşan düşük hava akımı ve geri dönüş istekleri nedeniyle çepelere doğru hareket eder. Uygun çözücüde çözülen kaplama materyali atomize edilerek odaya bir sis bulutu şeklinde verilir ve havada asılı kalan partiküllerin kaplanması sağlanır. Hava odasında bulunan mikro filtreler yardımı ile partiküller tekrar hava kaplama odasına döner ve daha iyi bir kaplama sağlanır. Tüm bu işlemler sonucunda odadan alınan ılık sıcaklığa sahip ürün tekrar kurutularak ambalajlanır (Desai ve Park, 2005). Toplam sıcaklık kontrolü ve düşük maliyet bu sistemin avantajları arasında yer almaktadır. Ancak yetişmiş eleman ihtiyacı ve nispeten uzun süreli bir işlem olması yöntemin dezavantajları arasında sayılabilir (Martín vd., 2015).

Rennet ile Jelleşmiş Protein Enkapsülasyonu

Bu yöntem gıda kaynaklı bir enzim olan rennet ve sulu süt protein solüsyonu kullanılarak mikrokapsüller oluşturulması temeline dayanmaktadır. Rennet kazein misellerinin agregasyonunu sağlayan k-kazein misellerini parçalayabilen proteolitik bir enzim kompleksidir. Kovalent olmayan çapraz bağlar 18°C'nin üstündeki sıcaklıklarda nihai jel oluşturmak üzere topaklaşan misellerin zincirleri arasında aşamalı olarak meydana gelmektedir. Bu özelliği nedeni ile bu teknik sonucu meydana gelen mikrokapsüller sayesinde probiyotikler enkapsülasyon işlemi boyunca canlılıklarını kaybetmezler. Bu durum protein tamponlama kapasitesinin neden olduğu yüksek pH'ya sahip matriksin koruyucu etkisi ile açıklanmaktadır. Ayrıca oluşturulan kapsül boyutlarının kontrolü ile son ürünün duyuşal özelliklerinin iyileştirilebilmesi bu yöntemin avantajları arasındadır. Tüm bu nedenlerden

dolayı, bu yöntem gıdalarda probiyotiklerin daha etkili bir şekilde kullanılması için uygun bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Martín vd., 2015).

Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma probiyotik preparatların hazırlanması için kullanılan eski bir yöntem olsa da bu yöntemin enkapsülasyon uygulamalarında kullanımı nispeten yeni bir yöntemdir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Dondurarak kurutma prosesi üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar süblimasyona dayanan dondurma ve birincil ve ikincil kurutma işlemleridir. Temel olarak yöntemin çalışma prensibi kurutulacak olan materyalin önce dondurulması sonrasında yüksek vakum altında süblimasyon ile kurutulması esasına dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Dondurarak kurutma işlemi sırasında oluşan kristaller ve yüksek ozmotik basınç hücre canlılığını etkilediğinden bu işlem öncesinde ortama kriyoprotektan özellik gösteren süttezu, peynir altı suyu proteini, glikoz ve maltodekstrin gibi koruyucular eklenmektedir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Dondurarak kurutma yönteminin, aroma kayıplarını azaltması, elde edilen ürünlerin rekonstitüsyon özelliklerinin çok iyi olması, gıda içerisinde çözünen maddelerin hareketi sonucu oluşan kayıpları minimize etmesi gibi sağlamış olduğu avantajların yanı sıra maliyetinin yüksek olması ve işlem süresinin uzunluğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bu yöntem püskürtmeli kurutmaya göre daha ılımlı bir yöntem olsa da mikroenkapsülasyon uygulamalarında ekonomik nedenler ile kullanımı sınırlıdır (Koç vd., 2010).

Püskürtmeli Kurutma

Püskürtmeli kurutma yöntemi genellikle bir kurutma yöntemi olarak düşünülse de, aktif materyalin koruyucu polimer bir matris içerisinde hapsedilmesine olanak sağlaması nedeniyle, son zamanlarda mikroenkapsülasyon tekniği olarak da kullanılmaktadır (Öztürk ve Çakır, 2015). Gıda endüstrisinde bu yöntem, üründe su aktivitesinin azaltılarak mikrobiyal stabilitenin sağlanması, bozulma faktörlerini engelleyerek son kullanma tarihini arttırması ve depolama ve taşıma maliyetlerinin azaltılması amacıyla kullanılmaktadır (Altun ve Özcan, 2013).

Bu yöntem ile elde edilen mikrokapsüle edilmiş ürünlerin maliyetinin düşük olması ve sağlamış olduğu avantajlar nedeni ile püskürtmeli kurutma gıda sanayinde en yaygın kullanılan mikroenkapsülasyon yöntemlerinin başında gelmektedir. Püskürtmeli kurutma prosesi; çekirdek malzemenin sisteme ve ürüne uygun bir kaplama materyali içeren çözelti içerisinde oluşturduğu dispersiyon ve emülsiyon karışımının homojen hale getirilmesi ve bu karışımın atomize edilerek kurutma odasına gönderilmesi esasına dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Püskürtmeli kurutma yönteminin sağlamış olduğu en büyük avantajlardan biri maliyetinin düşük olmasının yanında sürekli üretime uygun olmasıdır. Fakat yüksek sıcaklığa duyarlı probiyotik bakteri kültürlerinin kapsüllenmesinde kullanıldığında canlılık oranlarında düşüşe sebep olmaktadır (Schuck vd., 2016). Bu olumsuz etkinin giderilebilmesi için sistem giriş ve çıkış sıcaklıklarının ayarlanması ve kontrol edilmesi ile istenilen partikül boyutu dağılımına sahip enkapsüle edilmiş canlı kültür elde edilebilmektedir. Bu nedenle püskürtmeli kurutma yönteminde modifikasyonlar yapılmakta veya farklı yöntemler ile kombine edildiği sistemler geliştirilmektedir. Bu yöntemlerin başında iki aşamalı kurutma, püskürtmeli dondurarak kurutma, püskürtmeli dondurma, ultrasonik vakumlu püskürtmeli kurutma gibi yöntemler gelmektedir (Martín vd., 2015).

Hibridizasyon Sistemi

Hibridizasyon sistemi kısaca kuru kapsülleme yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Sistem altı bıçaklı yüksek hızda dönen bir rotor, sabit bir bobin ve toz devridaim devresinden oluşmaktadır. Toz karışım yüksek hızda dönen bıçaklar tarafından oluşturulan darbeye maruz bırakılarak, karışım içerisindeki yardımcı partiküllerin probiyotiklerin yüzeyinde bir film oluşturması sağlanmaktadır. Hibridizasyon sistemi ile yüksek miktarlarda mikrokapsül elde edilmektedir. Ayrıca sistem içerisinde bir soğutma ünitesi kullanılarak sıcaklık 30 °C'nin altında tutulur. Bu sayede ısı kaynaklı bakteriyel hasar en aza indirilebilmektedir. Bu yöntem ile yüksek verim elde edilirken aynı zamanda bakterilerin yüksek sıcaklıktan korunması da sağlanmaktadır (Martín vd., 2015).

Çarpışan Aerosol Teknolojisi

Son yıllarda mikroenkapsülasyon uygulama alanının artması ama buna karşın mevcut enkapsülasyon yöntemlerinin süreklilik konusundaki dezavantajları çarpışan aerosol teknolojisine neden olmuştur (Sohail vd., 2012). Çarpışan aerosol teknolojisine kullanıldığı sistemlerde aljinat solüsyonu içerisinde bulunan mikrobiyal süspansiyon ile kalsiyum klorid olmak üzere iki farklı aerosol kullanılmaktadır. Aljinat karışımı bir silindirin üst tarafından enjekte edilirken alt taraftan da kalsiyum klorid solüsyonu enjekte edilmektedir. Elde edilen mikrokapsüllerin ortalama çapı 40 µm'den küçüktür. Çarpışan aerosol teknolojisinde ısı yada çözücü kullanılmadığından, ısıya ve çözücülere duyarlı maddelerin enkapsülasyonunda kullanılabilir. Ayrıca çarpışan aerosol teknolojisi yüksek üretim kapasitesine sahiptir. Üretilen mikroboncuklar sprey kurutma ve dondurarak kurutma yöntemleri ile de kurutulabilmektedir (Martín vd., 2015).

Elektrodöndürme Yöntemi (Elektrospinning)

Elektrodöndürme yöntemi yüksek elektrik alan temeline dayanan, kolay uygulanabilir, kullanışlı ve çok yönlü bir teknolojidir (Chen vd., 2012). Bu yöntemde, elektrot gibi davranan bir kalıbın ucundan gelen çözelti veya eriyiğe yüksek elektrik alan uygulanır. Bu işlem, damlacık deformasyonuna ve sonuç olarak yüklü bir jet ucundan sayaç elektroduna doğru çözelti/eriyiğin fırlatılması ile sürekli lif oluşumuna yol açar (Martín vd., 2015). Farklı morfolojik yapılar elde edilmesine olanak tanıyan elektrodöndürme tekniği ile elde edilen bu yapıların morfolojileri uygulanan işlem parametrelerinin farklılığına göre değişmektedir (Chen vd., 2012). Elektrodöndürme yöntemi ile protein veya karbonhidrat bazlı matrisler kullanılarak mikrokapsüller üretilebilmektedir (Martín vd., 2015).

SONUÇ

Probiyotik hücrelerin olumsuz çevresel koşullarda canlılıklarını kolay kaybetmesi gıda üretiminde kullanılmaları açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Bu sebeple gıda endüstrisinde

mikroenkapsüle edilmiş probiyotik kültürlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Mikroenkapsülasyon yöntemleri ile kaplanan probiyotik hücrelerin çevre koşullarına karşı korunumu ve istenilen zamanda salınımının sağlanması ile konak canlıda maksimum biyoyarar elde edilmesi hedeflenmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların etkinliği ve hayatta kalabilmesi suşa ve kullanılan kaplama materyaline göre değişmektedir. Mikroenkapsülasyon yöntemi kullanımında öne çıkan en önemli konu, kullanılacak ürüne, ortama ve şartlara uygun mikroenkapsülasyon yönteminin belirlenmesi ve kaplama materyalinin seçimidir. Mevcut yöntemler ve kaplama materyallerinin taşıdıkları dezavantajlar nedeni ile mikroenkapsüle ürünler henüz raflarda istenilen düzeyde yerini alamamaktadır. Bu bağlamda yeni mikroenkapsülasyon yöntemlerinin geliştirilmesi, bu yöntemlere uygun kaplama materyali ve karışımlarının araştırılması mikroenkapsülasyon uygulamalarının verimini arttıracaktır. Bununla birlikte endüstriyel uygulamalar için sürekli üretime olanak tanıyan ekipmanların geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Salam, M.H., El-Shibiny, S., (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy Sci Technol*, 95: 393–412.
- Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M.U., Nadeem, M.T., Saeed, M., Tufail, T., (2018). The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics Antimicro Prot*, 1-7.
- Albadran, H.A., Chatzifragkou, A., Khutoryanskiy, V.V., Charalampopoulos D., (2018). Development of surfactant-coated alginate capsules containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 82: 490-499
- Altun, B., Özcan, T., (2013). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu II: kaplama materyalleri ve süt ürünlerinde uygulamalar. *Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg*, 27(2): 105–114.

- Areppally, D., Goswami, T.K., (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT- Food Sci Technol*, 99: 583–593.
- Arslan-Tontul, S., Erbas, M., (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *LWT - Food Sci Technol*, 81: 160–169.
- Atak, Z., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F., (2017). Gıda endüstrisinde aroma mikroenkapsülasyonu. *Akad Gıda*, 15: 416–425.
- Azagheswari, Kuriokase, B., Padma, S., Padma Priya, S., (2015). A review on microcapsules. *Glob J Pharmacol*. 9: 28–39.
- Başıyigit, B., Hayoğlu, I., Atasoy, F., (2017). Kekik esansiyel yağı ve mikroenkapsülasyon uygulamaları. *Batman Üniv Yaşam Bilim Derg* 7: 63–70.
- Çakır, İ., (2006). Mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik gıda üretiminde kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye, 693-696.
- Celli, G.B., Ghanem, A., Brooks, M.S.L., (2015). Bioactive encapsulated powders for functional foods—a review of methods and current limitations. *Food Bioprocess Technol*. 8: 1825–1837.
- Chakraborty, S., (2017). Carrageenan for encapsulation and immobilization of flavor, fragrance, probiotics, and enzymes: A review. *J Carbohydr Chem*, 36: 1–19.
- Chen, C., Liu, S., Liu, W., Zhao, Y., Lu, Y., (2012). Synthesis of novel solidliquid phase change materials and electrospinning of ultrafine phase change fibers. *Sol Energy Mater Sol Cells*, 96: 202–209.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C.M., Gong, J., (2017). Issues deserve attention in encapsulating probiotics: Critical review of existing literature. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57: 1228–1238.
- Coelho-Rocha, N.D, de Castro, C.P., de Jesus, L.C.L., Leclercq, S.Y., de Cicco Sandes, S.H., Nunes, A.C., Azevedo, V., Drumond, M.M., Mancha-Agresti, P., (2018). Microencapsulation of lactic acid bacteria improves the gastrointestinal delivery and in situ expression of recombinant fluorescent protein. *Frontiers Microbiol*, 9: 2398.
- Coghetto, C.C., Brinques, G.B., Ayub, M.A.Z., (2016). Probiotics production and alternative encapsulation methodologies to improve their viabilities under adverse environmental conditions. *Int J Food Sci Nutr*, 67: 929–943.
- De Prisco, A., Maresca, D., Ongeng, D., Mauriello, G., (2015). Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. *LWT-Food Sci Technol*, 61: 452-462.
- De Prisco, A., Mauriello, G., (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci Technol*, 48: 27–39.
- De Prisco, A., van Valenberg, H.J.F., Fogliano, V., Mauriello, G., (2017). Microencapsulated starter culture during yoghurt manufacturing, effect on technological features. *Food Bioprocess Technol*, 10: 1767-1777.
- Desai, K.G.H., ve Park, H.J., (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol*, 23(7): 1361-1394
- Dianawati, D., Mishra, V., Shah, N.P., (2016). Survival of microencapsulated probiotic bacteria after processing and during storage: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56: 1685-1716.
- Dordević, V., Balanć, B., Belscak-Cvitanović, A., Levic, S., Trifković, K., Kalusević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., Nedović, V., (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Eng Rev*, 7: 452–490.
- Doherty, S.B., Auty, M.A., Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Brodtkorb, A., (2012). Survival of entrapped *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit. *Int Dairy J*, 22: 31-43
- Espitia, P.J.P., Batista, R.A., Azeredo, H.M.C., Otoni, C.G., (2016). Probiotics and their potential

- applications in active edible films and coatings. *Food Res Int*, 90: 42-52.
- Fávaro-Trindade, C.S., Grosso, C.R., (2002). Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. *J Microencapsul*, 19(4): 485-494.
- Gbassi, G.K., Vandamme, T., Ennahar, S., Marchioni, E., (2010). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp. in an alginate matrix coated with whey proteins. *Int J Food Microbiol*, 129: 103-105.
- Giro-Paloma, J., Martínez, M., Cabeza, L.F., Fernández, A.I., (2016). Types, methods, techniques, and applications for microencapsulated phase change materials (MPCM): A review. *Renew Sustain Energy Rev*, 53: 1059-1075.
- Graff, S., Hussain, S., Chaumeil, J. C., & Charrueau, C. (2007). Increased intestinal delivery of viable *Saccharomyces boulardii* by encapsulation in microspheres. *Pharm Res*, 25: 1290-1296.
- Gökbulut, İ., Öztürk, F.S., 2018. Gıda mikroenkapsülasyonunda aljinat kullanımı. *Batman Üniv Yaşam Bilim Derg*, 8(1/2), 16-28.
- Habibi, H., Khosravi-Darani, K., (2017). Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. *Biocatal Agric Biotechnol*, 10: 130-140.
- Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U., (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52: 291-311.
- Huo, X., Li, W., Wang, Y., Han, N., Wang, J., Wang, N., Zhang, X., (2018). Chitosan composite microencapsulated comb-like polymeric phase change material via coacervation microencapsulation. *Carbohydr Polym*, 200: 602-610.
- Jiménez-Pranteda, M.L., Poncelet D., Ramos-Cormenzana, A., Monteoliva-Sanchez, M., (2009). Viability of probiotics exopolymers beads exposed to specific *in vitro* conditions. XVII'th International Conference on Bioencapsulation, 24-26 September, Groningen, Netherlands, Poster P85.
- Kailasapathy K., (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Lebensm Wiss Technol*, 39: 1221-1227.
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P.B., Shetty, P.H., (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. *Food Biosci*, 21: 34-44.
- Koç, M., Sakin, M., Ertekin, F.K., (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniv Müh Bilim Derg*, 16: 77-86.
- Kumar, B.V., Venkata, S., Vijayendra, N., (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. *J Food Sci Technol*, 52(10): 6112-6124.
- Kumar, R., Chauhan, S.K., Shinde, G., Subramanian, V., Nadanasabapathi, S., (2018). Whey proteins: A potential ingredient for food industry - a review. *Asian J Dairy Food Res*, 37: 283-290.
- Li, H., Thuy Ho, V.T., Turner, M.S., Dhital, S., (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *LWT - Food Sci Technol*, 74: 542-549.
- Marcial-Coba, M.S., Knöchel, S., Nielsen, D.S., (2019). Low-moisture food matrices as probiotic carriers. *FEMS Microbiol Lett*, 366: 1-11.
- Martín, M.J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M.A., Morales, M.E., (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 27: 15-25.
- Mohan, A., Rajendran, S.R.C.K., He, Q.S., Bazinet, L., Udenigwe, C.C., (2015). Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: A review. *RSC Adv*, 5: 79270-79278.
- O'Riordan, K., Andrews, D., Buckle, K., Conway, P., (2001). Evaluation of microencapsulation of a *Bifidobacterium* strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. *J Appl Microbiol*, 91: 1059-1066.

- Öztürk, S., Çakır, İ., (2015). Mikroorganizma kültürlerinin korunmasında kullanılan kurutma yöntemleri. *Akad Gıda*, 13 (1), 94–100.
- Pandey, K.R., Vakil, B.V., (2017). Encapsulation of probiotic *Bacillus coagulans* for enhanced shelf life. *J Appl Biol Biotechnol*, 5: 57–65.
- Paulo, F., Santos, L., (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Mater Sci Eng C*, 77: 1327–1340.
- Peanparkdee, M., Iwamoto, S., Yamauchi, R., (2016). Microencapsulation: A review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Rev Agric Sci*, 4: 56-65.
- Picot, A., Lacroix, C., (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int Dairy J*, 14: 505-515.
- Pradeep Prasanna, P.H., Charalampopoulos, D., (2018). Encapsulation in an alginate–goats’ milk–inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions and goats’ milk yoghurt. *Int J Dairy Technol*, 72(1): 132-141.
- Quintero, J., Rojas, J., Ciro, G., (2018). Vegetable proteins as potential encapsulation agents: A review. *Food Research*, 2(3): 208–220.
- Ramani, R., Ramani, V., (2018). Probiotic microencapsulation techniques and coating materials. *Int J Probiotics Prebiotics*, 13: 161–168.
- Ramos, P.E., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Vicente, A.A., (2018). Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58:1864–1877.
- Rocha, M.A.M., Coimbra, M.A., Nunes, C., (2017). Applications of chitosan and their derivatives in beverages: A critical review. *Curr Opin Food Sci*, 15: 61–69.
- Roshanzamir, M., Jafari, M., Molae, E., Ghasemkhani, I., (2017). The survival of probiotic bacteria and sensory properties of yogurt affected by microencapsulation with resistant starch 3. *J Food Safe & Hyg*, 3(3/4): 59-64.
- Sagis, L.M. (2015). *Microencapsulation and microspheres for food applications*. Academic Press, p.235-248, ISBN 9780128003503
- Sarao, L.K., Arora, M., (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57: 344–371.
- Schuck, P., Jeantet, R., Bhandari, B., Chen, X.D., Perrone, Í.T., de Carvalho, A.F., Fenelon, M., Kelly, P., (2016). Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. *Dry Technol*, 34: 1773–1790.
- Shaddel, R., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Hamishehkar, H., Fathi-Achachlouei, B., Huang, Q., (2018). Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. *Int J Biol Macromol* 107: 1800–1810.
- Sharif, H.R., Williams, P.A., Sharif, M.K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K.G., Safdar, W., Zhong, F., (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. *Food Hydrocoll*, 76: 2–16.
- Shori, A.B., (2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI J Biosci*, 24: 1–5.
- Singh, P., Magalhães, S., Alves, L., Antunes, F., Miguel, M., Lindman, B., Medronho, B., (2019). Cellulose-based edible films for probiotic entrapment. *Food Hydrocoll*, 88: 68–74.
- Socol, C.R., Prado, M.M.R., Garcia, L.M.B., Rodrigues, C., Medeiros, A.B.P., Socol, V.T., (2014). Current developments in probiotics. *J Microb Biochem Technol*, 7: 11–20.
- Sohail, A., Turner, M.S., Prabawati, E.K., Coombes, A.G.A., Bhandari, B., (2012). Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. *Int J Food Microbiol*, 157: 162–166.
- Suganya, V., Anuradha, V., (2017). Microencapsulation and nanoencapsulation: A review. *Int J Pharm Clin Res*, 9: 233–239.

- Turasan, H., Sahin, S., Sumnu, G., (2015). Encapsulation of rosemary essential oil. *LWT - Food Sci Technol*, 64: 112–119.
- Uran, H., Aloğlu, H., Çetin, B., (2017). Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu. *Mediterr Agric Sci*, 30 (2), 107–112.
- Varhan, E., Koç, M., (2018). Gıda bileşenlerinin sprey soğutma yöntemi ile enkapsülasyonu. *Food Health*, 4(3): 202–212.
- Wang, J., Korber, D.R., Low, N.H., Nickerson, M.T., (2014). Entrapment, survival and release of *Bifidobacterium adolescentis* within chickpea protein-based microcapsules. *Food Res Int*, 55: 20–27.
- Wang, M., Yang, J., Li, M., Wang, Y., Wu, H., Xiong, L., Sun, Q., (2019). Enhanced viability of layer-by-layer encapsulated *Lactobacillus pentosus* using chitosan and sodium phytate. *Food Chem*, 285: 260–265.
- Wani, T.A., Shah, A.G., Wani, S.M., Wani, I.A., Masoodi, F.A., Nissar, N., Shagoo, M.A., (2016). Suitability of different food grade materials for the encapsulation of some functional foods well reported for their advantages and susceptibility. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(15), 2431-2454.
- Zia, K.M., Tabasum, S., Khan, M.F., Akram, N., Akhter, N., Noreen, A., Zuber, M., (2018). Recent trends on gellan gum blends with natural and synthetic polymers: A review. *Int J Biol Macromol*, 109: 1068–1087.