



## Özgün Araştırma/Original Article

### Fruktooligosakkarit ve aljinat ile enkapsüle edilmiş *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşunun kurumaya karşı direncinin saptanması

#### Determination of resistance to drying of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 encapsulated with fructooligosaccharide and alginate

Kübra Küçükönder Kurt<sup>1</sup>, Özlem Turgay<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KAHRAMANMARAŞ, TÜRKİYE  
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID:0000-0002-3238-9669, Yüksek Lisans Öğrencisi

ORCID ID:0000-0003-2286-833X, Prof. Dr.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author: [ozlem@ksu.edu.tr](mailto:ozlem@ksu.edu.tr)

Geliş Tarihi: 07.05.2021

Kabul Tarihi: 11.10.2021

## Özet

**Amaç:** Probiyotik mikroorganizmalar son zamanlarda sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı dikkat çekmektedir. Bu çalışmada *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşu emülsiyon polimerizasyon yöntemi kullanılarak enkapsüle edilmiş ve kurumaya karşı direnci araştırılmıştır.

**Materyal ve yöntem:** Bu amaçla %2 aljinat kaplama materyali olarak kullanılmış ve dört farklı konsantrasyonda (%0; %0,5; %0,75 ve %1,5) fruktooligosakkarit (FOS), kaplanan mikroorganizmanın dayanıklılığını arttırmak amacı ile kaplama materyaline eklenmiştir. Liyofilizatörde bir gece kurutulmuş enkapsüle mikroorganizmalar, steril ortamda 9 g kuru bebek mamasına 1 g eklenerek 4°C ve 25°C'de depolanmış ve 0, 2, 4, 6, 8 ve 10. günlerde 3 paralel olacak şekilde, canlı mikroorganizma sayımı yapılmıştır.

**Tartışma ve sonuç:** İstatistiksel analiz sonucunda kurumaya karşı canlılığı en iyi koruyan kaplama materyalinin 4°C'de depolanan %0,75 FOS ilaveli %2 aljinat olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 4°C'de depolamanın istatistiki olarak canlılık üzerine olumlu etkisi saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Lactobacillus reuteri*, enkapsülasyon, aljinat, fruktooligosakkarit, FOS

## Abstract

**Objective:** Probiotic microorganisms had been recently noted for their positive effects on health. In this study, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 strain was encapsulated using emulsion polymerization method and its resistance to drying was investigated.

**Material and method:** For this purpose, the strain was coated with 2% alginate and four different concentrations (0, 0.5, 0.75, and 1.5%) of fructooligosaccharide (FOS). Encapsulated microorganisms were dried for one night in the lyophilizer and stored at 4°C and 25°C by adding 1 g microorganism to 9 g of dry baby food in sterile medium. Survived microorganisms were counted in three parallels at 0, 2, 4, 6, 8 and 10th days.

**Results and conclusion:** It was found that the coating material protected the vitality against drying stored at 4°C, 2% alginate with 0.75% FOS. Additionally, the positive effect of storage at 4°C on vitality was determined statistically.

**Keywords:** *Lactobacillus reuteri*, encapsulation, alginate, fructooligosaccharide, FOS

## 1. Giriş

Günümüzde tükettiğimiz gıdaların besin değeri ve lezzetinin yanında fonksiyonel özelliklerine de dikkat edilmektedir. Son zamanlarda tüketicilerin fonksiyonel gıdalara ilgilerinin ve taleplerinin artması sonucu bilim adamlarının fonksiyonel gıdalar üzerine yaptığı çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalarda probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar ayrı bir öneme sahiptir. Ancak probiyotik mikroorganizmaların gerekli faydayı sağlaması için belirli bir sayının üstünde ( $10^6$ - $10^7$  kob/mL) vücuda alınmaları gerekmektedir. Fakat kullanılan ilaçlar, stres, hastalıklar, beslenme alışkanlıkları probiyotik mikroorganizmaların azalmasına neden olmaktadır (Ünal ve Erginkaya, 2010). Probiyotik mikroorganizmaların sağlığa faydalı olması ve gerekli olan miktarda bulunmasını sağlamak için bu mikroorganizmaların taşıyıcı gıdalarla alınması gerekmektedir. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafınca hazırlanan rapora göre probiyotik mikroorganizmalar düşük pH değerine sahip mide asidine ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmalı ve bunun yanında sindirim sisteminde canlı kalabilme özelliğine sahip olmalıdır (FAO, 2002).

Probiyotik bakteriler, asidik koşullara dayanıklı, antimikrobiyal maddeler üreten, bağışıklık sistemini iyileştiren, hızlı bir şekilde metabolize olan ağız yoluyla yeterli miktarda alındığında insanlarda bağırsak florasını düzenleyen, antimikrobiyal, antikanserojen ve immün modülatör etkileri olan ve patojen olmayan canlılardır (Yaşlı, 2010; Sedefoğlu, 2014). Başlıca probiyotik mikroorganizmalar arasında bazı *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacteriodes* ve *Propionibacterium* türleri ile bazı mayalar ve küfler gelmektedir. İnsanlar probiyotik mikroorganizmaları fermente gıdalardan, paketlenmiş veya kapsül halindeki takviye edici gıdalardan almaktadır (Ertem, 2016).

*Lactobacillus* türleri arasında bulunan *L. reuteri* bebeklerde ve yeni doğanlarda farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmasından dolayı önemlidir. Son yıllara kadar *L. reuteri*, *L. fermentum* olarak tanımlanmıştır (Casas ve Dobrogosz, 2000). *L. reuteri* heterofermentatif bir bakteri olup karbonhidratları laktik aside ve bunun yanında asetik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerine çevirir. *L. reuteri*'nin heterofermentasyonunda  $H_2O_2$  ve bakteriyosinler, laktik ve asetik asit üretilmektedir. Fermantasyon sonucu oluşan asitler sayesinde bağırsak pH değeri, çoğu patojenik bakterinin gelişmesini engelleyecek şekilde düşmektedir. *L. reuteri* hücre yüzeyi proteinlerini (AggH, CnBP ve Mub) üretmektedir. Bu hücre yüzeyi proteinleri kolonizasyon faaliyetleri göstermektedir ve aynı zamanda intestinal mukozal hücrelerin bakterilere tutunmasında da etkisi vardır (Casas ve Dobrogosz, 2000).

Yapılan çalışmalar *L. reuteri*'nin bulunduğu ortamda kolonize olarak, bulunduğu metabolizmanın belirli mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal rahatsızlıklara karşı savunma mekanizmasını güçlendirici, geliştirici etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *L. reuteri*'nin gastrik asit ve safra tuzlarına karşı dayanıklılığı yüksektir. Mideden geçip gastrointestinal bölgede koloni oluşturabilmesi bu özelliğiyle mümkün olur (Tonguç vd., 2012).

Gıdalarda kullanılacak olan *L. reuteri*'nin üretim süresi boyunca canlılığını yüksek oranda koruması önemli bir kriterdir. *L. reuteri* kültürü ticari fermentörlerde üretilip liyofilize veya dondurulmuş preparatlar oluşturulup ticari kullanıma hazırlanmıştır. *L. reuteri* ilk kez 1991 yılında İsveç'te fonksiyonel bir markette BRA sütü ve BRA fermente sütü (*Bifidobacterium animalis*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*'un baş harflerinden türetilmiştir) olarak insanlara sunulmuştur. *L. reuteri* içeren süt ürünleri, meyve suları ve diğer birçok probiyotik içeren gıda ürünleri ABD ile Finlandiya ve diğer bazı İskandinav ülkelerinin marketlerinde bulunabilmektedir. Üretim aşamasında "lifetop" olarak adlandırılan bir sistem kullanılarak ısı işlem gerektiren UHT süt ve meyve suları gibi ürünlerde *L. reuteri* kültürü liyofilize edilip üründeki şişenin alt kısmına yerleştirilerek şişenin çalkalanmasıyla ürünün içerisine kültür karışmaktadır. Japonya'da bir gıda firması *L. reuteri* kültürü bulunan %2,5 yağ oranlı, %8 toplam yağsız kuru madde içeren sade, çilekli ve yaban mersinli olmak üzere üç çeşit 80 gramlık ambalajlardaki yoğurtları satışa sunmuştur. Ayrıca firma *L. reuteri* kültürü içeren kahvaltılıkarda ve diyet ara öğün olarak kullanılabilir yoğurt içeceğini de satışa sunmuştur. Canlı *L. reuteri* kültürleri eklendikleri gıdalara koruyucu ve besleyici özellikler katarken aynı zamanda sağlığa faydalı özellikler kazandırır ve bu geniş bir fonksiyonel aralığına sahip olmasını sağlamaktadır (Tonguç vd., 2012).

Enkapsülasyon; katı, sıvı veya gaz halindeki gıda maddelerinin veya karışımlarının genelde protein veya karbonhidrat bazlı kaplama materyaliyle uygun yöntemler kullanılarak maddenin veya karışımın hapsedilmesidir. Enkapsülasyon uygulamaları; gıda maddelerinin yanı sıra ziraat, tıp, eczacılık, biyoteknoloji gibi diğer alanlarda da yaygındır ve bunun yanında gıda katkılarında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Enkapsülasyon uygulamaları 40-50 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Yatırımları incelendiğinde enkapsülasyon teknolojisinde özellikle nano-enkapsülasyon tekniğine yapılan yatırım gün geçtikçe artmaktadır. ABD ve İngiltere enkapsülasyon teknolojisinde kullanılan gıda bileşenlerini üreten firmaların merkezidir. Gam arabik kullanılarak kapsüleleştirilmiş aroma tozu üretilmiştir. İngiltere'de kullanılan püskürterek kurutma tekniği, gıda sanayisinde önemli uygulamalardan biri olmuştur. Püskürterek kurutma

teknolojisi bir dehidrasyon prosesi olarak görülse de koruyucu bir matriks oluşturduğu için enkapsülasyon tekniği olarak kullanılır (Gökmen vd., 2012).

Enkapsülasyon teknikleri sadece püskürterek kurutma yöntemi değildir. Enkapsülasyon yöntemleri; püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, ekstrüzyon, koazervasyon ve emülsiyon polimerizasyonudur. Enkapsülasyon yöntemi seçilirken kullanılacak materyal ve membranın özelliklerine göre seçilmelidir. Probiyotik gıdalar için tercih edilen yöntemler püskürterek kurutma, emülsiyon polimerizasyonu ve ekstrüzyon yöntemleridir (Özcan ve Altun, 2013).

Emülsiyon polimerizasyonunda belli bir miktarda kültüre; sodyum aljinat, ayçiçeği yağı, kanola yağı, mısır yağı gibi bitkisel yağlar ilave edilerek, su-yağ emülsiyonu oluşana kadar karıştırılma işlemi yapılmaktadır. Emülsiyon oluşturulduktan sonra içerisine belirli miktarda  $CaCl_2$  (kalsiyum klorür) püskürtülmekte, sodyum ve kalsiyum iyonları çapraz bağlanma sonucu yer değiştirerek kalsiyum-aljinat kapsülleri oluşmaktadır. Daha sonra filtreleme işlemiyle oluşan kapsüller sıvı ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Sedefoğlu, 2014).

Bu çalışmada sağlık açısından faydalı, probiyotik özellik gösteren *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşunun kurumaya karşı direncinin enkapsülasyon ile artırılması amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve metod

Bu çalışmada emülsiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılarak *L. reuteri* DSM 17938 suşu (BioGaiA AB, Stockholm/İsveç), sodyum aljinat (Carl Roth) ve fruktooligosakkarit (FOS) (Sigma, Amerika) ile enkapsüle edilmiştir.

### 2.1. Enkapsülasyon işlemi

Bu çalışmada, Apichartsrangkoon vd. (2015), tarafından geliştirilen emülsiyon polimerizasyon yöntemi kullanılarak enkapsülasyon işlemi yapılmıştır. *L. reuteri* DSM 17938 suşu 37°C'de anaerobik koşullarda 18 ve 24 saat olmak üzere iki kez MRS broth (de MAN, ROGOSA and SHARPE - Acumedia) besiyerinde aktive edilmiştir. Daha sonra 4.500 rcf devirde 10 dakika 15°C'de santrifüj edilen

kültür %0,1'lik peptonlu su ile  $10^{-10}$  kob/ml konsantrasyonuna seyreltilmiştir. 1 ml kültür, 4 ml aljinat, 20 ml tween-80 katkılı yağ ilave edilerek 450 rpm'de 20 dk. karıştırılarak emülsiyon oluşturulmuş sonra 0,1 M 20 ml  $CaCl_2$  steril bir sprey yardımıyla karışıma ilave edilmiştir.  $CaCl_2$  ilavesi sonrasında karışım manyetik karıştırıcıda 450 rpm'de 10 dk. daha karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi bittikten sonra enkapsülasyonun tamamlanması için 10-15 dk. dinlenmeye bırakılmıştır. Oluşan kapsüller vakum pompası yardımıyla karışımdan ayrılmıştır. Ayrılan kapsüller liyofilizatörde bir gece -70°C'de 0,02 atm basınç altında kurutulmuştur. Enkapsülasyon işleminde kaplama materyali olarak %0; 0,5; 0,75; 1; 1,5 (w/v) oranlarında FOS ilaveli %2 sodyum aljinat kullanılmıştır. Elde edilen kapsüller ışık mikroskobu ve SEM (Scanning Electron Microscope) görüntüleme tekniği ile incelenerek kapsül oluşumu tespit edilmiştir.

### 2.2. Enkapsüle hücrelerin depolama dayanımı

Liyofilizatörde bir gece kuruyan kapsüller steril ortamda 1 g olacak şekilde tüplere konulmuş ve 9 g kuru bebek maması ilave edilerek homojen bir karışım sağlanmıştır. Örnekler 4°C ve 25°C'de muhafaza edilmiş ve 0, 2, 4, 6, 8 ve 10. günlerde 3 paralel olacak şekilde, canlı mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Enkapsülasyon sonrası bakteri sayısını belirlemek için 100 mg liyofilize kapsül üzerine 9 ml EDTA (Etilendiamin Tetra Asetik Asit) ilave edilerek 20 dk 450 rpm hızında karıştırılarak kapsüllerin çözünmesi sağlanmıştır (Champagne vd., 1996). Daha sonra %0,05 sistein ilave edilen MRS agara kültürel ekim yapılarak canlı kalan bakteri sayısı hesaplanmıştır.

### 2.3. İstatistiksel analiz

IBM SPSS Statistics Version 24 programı kullanılarak tek yönlü ANOVA testi uygulanmış TUKEY çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır.

## 3. Bulgular ve tartışma

Tukey sonuçlarına göre canlılığı en iyi koruyan kaplama materyalinin %0,75 FOS ilaveli %2 aljinat olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 1 ve 2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 1.** Enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların 4°C'de depolama sonucunda gösterdiği canlılık

Kaplama Materyali	Depolama Süresi Boyunca Canlı Kalan Mikroorganizma Sayısı (log kob/ml)					
	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün
%2 aljinat	9,46 <sup>a</sup>	7,43 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,33 <sup>a</sup>	6,07 <sup>a</sup>	5,39 <sup>a</sup>
%2 aljinat+0,5 FOS	9,37 <sup>a</sup>	8,81 <sup>b</sup>	7,25 <sup>b</sup>	7,18 <sup>b</sup>	7,1 <sup>b</sup>	5,92 <sup>a</sup>
%2 aljinat+0,75 FOS	8,51 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>	7,27 <sup>b</sup>	7,24 <sup>c</sup>	7,18 <sup>c</sup>	7,1 <sup>b</sup>
%2 aljinat+1,5 FOS	8,87 <sup>a</sup>	8,41 <sup>a</sup>	7,36 <sup>b</sup>	7,12 <sup>d</sup>	6,91 <sup>b</sup>	6,43 <sup>c</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle takip edilen değerler önemli ölçüde farklıdır ( $p < 0.05$ )

**Çizelge 2.** Enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların 25°C'de depolama sonucunda gösterdiği canlılık

Kaplama Materyali	Depolama Süresi Boyunca Canlı Kalan Mikroorganizma Sayısı (log kob/ml)					
	0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün
%2 aljinat	9,46 <sup>a</sup>	7,71 <sup>a</sup>	6,46 <sup>a</sup>	6,02 <sup>a</sup>	5,62 <sup>a</sup>	5,43 <sup>a</sup>
%2 aljinat+0,5 FOS	9,37 <sup>a</sup>	7,75 <sup>a</sup>	7,01 <sup>b</sup>	6,79 <sup>b</sup>	5,82 <sup>a</sup>	4,98 <sup>a</sup>
%2 aljinat+0,75 FOS	8,51 <sup>a</sup>	7,48 <sup>b</sup>	7,11 <sup>c</sup>	7,04 <sup>c</sup>	6,80 <sup>b</sup>	5,65 <sup>b</sup>
%2 aljinat+1,5 FOS	8,87 <sup>a</sup>	7,22 <sup>a</sup>	6,98 <sup>c</sup>	6,44 <sup>b</sup>	6,04 <sup>c</sup>	5,36 <sup>a</sup>

\*Aynı sütunda farklı harflerle takip edilen değerler önemli ölçüde farklıdır ( $p < 0.05$ )

Sıcaklığın canlılık üzerine etkisi değerlendirildiğinde 4°C'de ve 25°C'de depolanan örnekler arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ), 4°C'de depolanan mikroorganizmaların canlılığını daha iyi koruduğu saptanmıştır. Oluşturulan kapsüller arasında canlılığı en iyi koruyan kapsül %0,75 FOS katkılı aljinat olup bunların 4°C'de muhafazasında 10 gün sonunda canlılık %83,4 oranında korunmuştur.

### 3.1. Kaplama materyallerinin 4°C'de canlılık üzerine etkisi

Enkapsüle edilmiş tüm örnekler 10 gün boyunca 4°C'de depolanmış ve 2 günde bir kültürel ekim yapılarak canlı mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir. %2 aljinat ilaveli enkapsüllerde başlangıçta 9,46 log kob/ml olan mikroorganizmalar 10. günün sonunda 5,39 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. %2 aljinat %0,5 FOS ilaveli enkapsüllerdeki başlangıç mikroorganizma sayısı 9,37 log kob/ml olup, 10. günde kalan mikroorganizma sayısı 5,92 olarak saptanmıştır. %0,75 FOS ilaveli %2 aljinatlı enkapsüllerde 8,51 log kob/ml olan mikroorganizma sayısı 10. günün sonunda 7,10 log kob/ml olarak belirlenmiştir. %1,5 FOS ilaveli %2 aljinatlı enkapsüllerde başlangıçtaki mikroorganizma sayısı 8,87 log kob/ml olarak tespit edilmiş olup 10. gün sonunda canlı kalan mikroorganizma sayısı 6,43 log kob/ml olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). Depolama sıcaklığı 4°C'deki örnekler değerlendirildiğinde 10 gün süresince mikrobiyal canlılık en fazla %2 aljinat %0,75 FOS ilaveli kaplama materyali kullanılarak enkapsüle edilen mikroorganizma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca %2 aljinata FOS ilavesinin depolama boyunca mikroorganizmanın canlılığını artırdığı tespit edilmiştir.

### 3.2. Kaplama materyallerinin 25°C'de canlılık üzerine etkisi

%2 aljinat enkapsülleri 25°C'de 10 gün boyunca depolanmış ve 2 günlük periyotlarla ekim yapılmıştır. Başlangıçtaki mikroorganizma sayısı 9,46 log kob/ml iken 10. günde canlı kalan mikroorganizma sayısı 5,43 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. %0,5 FOS ilaveli %2 aljinat enkapsüllerinin başlangıçta 9,37 log kob/ml olan canlı mikroorganizma sayısı 10 gün sonunda 4,98 log kob/ml olmuştur. %0,75 FOS ilaveli %2 aljinatlı enkapsüllerde başlangıçta canlı

mikroorganizma sayısı 8,51 log kob/ml iken 10 günün sonunda 5,65 log kob/ml olarak bulunmuştur. %1,5 FOS ilaveli %2 aljinatlı enkapsüllerde başlangıç mikroorganizma sayısı 8,87 log kob/ml iken 10 günün sonunda 5,36 log kob/ml olarak bulunmuştur. 25°C'de depolanan örnekler değerlendirildiğinde %2 aljinat %0,75 FOS ilaveli kaplama materyaliyle enkapsüle edilmiş olan mikroorganizmanın 10 gün süresince mikrobiyal olarak canlılığını daha iyi koruduğu tespit edilmiştir. 25°C'de depolanan enkapsüle mikroorganizmada da FOS ilavesinin depolama süresince canlılığı koruduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2).

4°C ve 25°C'de depolanan enkapsüle edilmiş canlı mikroorganizma sayıları kıyaslandığında enkapsüle mikroorganizmaların depolama süresince 4°C'de 25°C'ye göre daha iyi canlılığı koruduğu tespit edilmiştir. Her iki sıcaklıktaki depolanmış %2 aljinat, %2 aljinat + %0,5 FOS, %2 aljinat + %0,75 FOS, %2 aljinat + %1,5 FOS kaplama materyalleriyle kaplanmış canlı mikroorganizma sayıları kıyaslandığında en iyi kaplama materyalinin %2 aljinat + %0,75 FOS olduğu tespit edilmiştir.

Muthukumarasamy ve Holley (2007) yaptıkları çalışmada aljinatla enkapsüle edilmiş *L. reuteri*'de 0,5 log kob/ml azalırken; kapsüllenmemiş kontrol örneğinde 3,6 log kob/ml faz azalma tespit etmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada %2 aljinatla yapılan kapsülasyonda 4°C'de 4,07 log kob/ml azalırken %0,75 FOS ilaveli %2 aljinatla yapılan kapsülasyonda 4°C'de 1,41 log kob/ml azalma tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların canlılıklarını koruması, kullanılan kaplama materyalleriyle ilişkilidir. Bizim bulgularımız ile bu çalışmanın bulguları benzemektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada aljinat ile yapılan kapsülleme işleminde canlılık FOS ilavesiyle yapılmış kapsülleme işlemine göre daha düşüktür.

Çelik (2017), yaptığı çalışmada *L. reuteri*'yi aljinat ve FOS ilaveli aljinat kaplama materyalleriyle kapsüllemiştir. Çalışmanın sonucunda aljinat içerisine FOS ilavesinin gastrointestinal sistemde canlılığını daha iyi koruduğunu saptamıştır. Çelik (2017), %0,75 FOS ilaveli %2 aljinatla yapılan enkapsülasyon işleminde 1,29 log kob/ml azalma tespit etmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada 4°C'de muhafazada %0,75 FOS ilaveli %2 aljinat ile kapsülasyonda 1,40 log kob/ml azalma saptanmıştır.

Sonuç olarak aljinat içerisinde FOS ilavesinin kurumaya karşı canlılığı daha iyi koruduğu tespit edilmiştir.

Martin vd. (2013), yaptıkları çalışmada *L. fermentum* CECT5616 suşunu aljinat ve mısır nişastası ilaveli aljinat kaplama materyalleriyle kapsüllemişler ve sonucunda nişasta+aljinat karışımıyla yapılan kapsüllemenin sadece aljinatla yapılan kapsüllemeye göre canlılığı daha iyi koruduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada sadece aljinatla yapılan enkapsülasyonda 4°C'de muhafazada 4,07 log kob/ml azalma görülürken farklı oranlarda ilave edilen FOS'un canlılığı daha iyi muhafaza ettiği tespit edilmiştir. Bu çalışma, mikroorganizmanın enkapsüle edilmesinin çevresel koşullara karşı pozitif etkisinin olduğunu göstermiştir.

Sultana vd. (2000), yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* ve *B. bifidum* kültürlerini kalsiyum aljinata mısır nişastası eklenmesiyle oluşan kaplama materyaliyle ve sadece aljinatla kapsüllemişlerdir. Çalışma sonucunda mısır nişastasının kaplama materyaline eklenmesiyle yapılan kapsülleme işleminde sadece aljinatla kapsüllemeye göre canlılığı daha iyi koruduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca kapsüle edilmiş mikroorganizma ve kapsüllememiş mikroorganizma 8 haftalık depolama sürecinde kapsüllemiş mikroorganizmada canlılık 0,5 log kob/ml azalma gösterirken kapsüllememiş mikroorganizmada 1 log kob/ml azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Her iki çalışmada da kapsüle edilme işleminin mikroorganizma canlılıklarını daha iyi koruduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca Sultana vd. (2000), yaptıkları çalışmada aljinat içerisinde ilave edilen prebiyotik özellik gösteren mısır nişastası ve bizim yaptığımız çalışmada prebiyotik özellik taşıyan FOS kaplama materyaline eklenmesinin mikroorganizmaların canlılıklarını korumalarında olumlu katkılarının olduğu gözlemlenmiştir.

Özer vd. (2009), yaptıkları çalışmada *Bifidobacterium bifidum* bb-12 ve *L. acidophilus* LA-5 suşlarını, emülsiyon yöntemini kullanarak κ-karragenan ile ve ekstrüzyon yöntemini kullanarak aljinat ile enkapsüle etmişler ve salamura beyaz peynire katarak canlılıkları incelemişlerdir. Sonuç olarak, enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların enkapsüllememiş mikroorganizmalara göre canlılıklarını daha iyi koruduğu tespit edilmiştir.

Khalida vd. (2000), *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium spp.*'yi kalsiyum-aljinat-nişasta karışımını kullanarak enkapsüle etmişlerdir.

Kapsüllenen mikroorganizmaları set yoğurtlarına (pihtısı kırılmamış yoğurt) ilave etmişler ve 8 hafta boyunca 4°C'de depolamışlardır. Sonuç olarak, enkapsüle edilmiş mikroorganizmaların kapsüllememiş olanlara göre canlılıklarını daha iyi koruduklarını tespit etmişlerdir.

#### 4. Sonuç ve öneriler

Günümüzde prebiyotik içerikli besinlerin tüketimi gerek sağlık faydaları gerekse ürün kalitesine kattığı katma değerden dolayı oldukça artmıştır. Fakat bu ürünlerin tüketilmesindeki en büyük sorun prebiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını uzun süre muhafaza edememeleridir. Prebiyotik içerikli gıdaların raf ömürlerinin daha uzun süre korunmaları için enkapsülasyon yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Genellikle yapılan çalışmalar laboratuvar ölçeklidir.

Yapılan bu çalışmada enkapsülasyon uygulamasının sonucunda canlılığı en iyi koruyan kaplama materyalinin 4°C'de muhafaza edilen %0,75 FOS ilaveli %2 aljinat olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca FOS ilaveli tüm kapsüller aljinat kapsülüne göre canlılığı daha iyi korumuştur. Bu sonuçlardan yola çıkıldığında prebiyotik özellikte olan FOS ilavesinin kaplama materyali içerisinde kullanımının canlılığın korunumunda yardımcı olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber uygulanan iki farklı depolama sıcaklığından 4°C'nin 25°C'ye göre canlılığı daha iyi koruduğu belirlenmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada *L. reuteri*'yi enkapsüle ederek bebek maması içerisindeki raf ömrü gözlemlenmiştir. Farklı kaplama materyalleriyle yaptığımız bu enkapsülasyon işleminde kaplama materyaline eklenen prebiyotik ilavesinin *L. reuteri*'nin canlılığını korumasında etkili bir faktör olduğu tespit edilmiştir.

Enkapsülasyon teknolojisiyle yapılan çalışmalara bakıldığında kullanılan kaplama materyallerine prebiyotik maddenin ilave edilerek kapsülasyon uygulamalarının yapıldığı görülmektedir. Farklı prebiyotik maddelerin kapsülasyon işleminde canlılığının değerlendirilmesi, dondurma, meyve suyu, peynir gibi farklı ürünlerde enkapsüle edilen kültürlerin bileşime eklenerek ürüne sağlayacağı katma değer, ileride çalışılması düşünülen konular olarak sıralanabilir.

#### 5. Teşekkür

Bu çalışma, KSÜ BAP tarafından 2016/3-6 YLS proje numarası ile desteklenmiştir.

## 6. Kaynaklar

Apichartsrangkoon, A., Chaikham, P., Pankasemsuk, T. and Baipong, S. (2015). In vitro experiment on *Lactobacillus casei* 01 colonizing the digestive system in the presence of pasteurized longan juice. *Acta Alimentaria*, 44 (4):493-500.

Casas, I.A. and Dobrogosz, W.J. (2000). Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microbiol Ecology in Health and Disease*, 12: 247-285.

Champagne, C.P., Mondou, F., Raymond, Y. and Brochu, E. (1996). Effect of immobilization in alginate on the stability of freeze-dried *Bifidobacterium longum*. *Bioscience and Microflora*, 15: 9-12.

Çelik, E. (2017). Emülsiyon polimerizasyonu ile *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşunun enkapsülasyonu ve gastrointestinal dayanımı. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Yüksek Lisans Tezi-50s.

Ertem, H. (2016). Probiyotik kültür ve gobdin ilavesiyle üretilen yoğurtların probiyotik raf ömrü ve bazı kalite özelliklerinin tespiti. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Yüksek Lisans Tezi-102s.

FAO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. World Health Organization Food and Agriculture Organization of The United Nations, London, Ontario, Canada.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R. ve Sarıçoban, C. (2012). Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1:36-50.

Khalida, S., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. and Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastro-intestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62: 47-55.

Martin, M.J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M.A. and Morales, M.E. (2013). Effect of unmodified starch on viability of aljinate-encapsulated *Lactobacillus fermentum* CECT5716. *LWT - Food Science and Technology*, 53 (2):480-486.

Muthukumarasamy, P. and Holley, R.A. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24(1): 82-88.

Özcan, T. ve Altun, B. (2013). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu I:Enkapsülasyon Teknikleri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2: 93-104.

Özer, B., Kırmacı, H. A., Şenel, E., Atamer, M. and Hayaloğlu, A. (2009). Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*, 19: 22-29.

Sedefoğlu, S. (2014). Enkapsülasyon işleminin dondurma depolama periyodu boyunca probiyotik *Lactobacillus acidophilus* stabilitesi üzerine etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Yüksek Lisans Tezi-69s.

Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. and Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62: 47-55.

Tonguç, İ.E., Yerlikaya, O. ve Kınık, Ö. (2012). *Lactobacillus reuteri*: Fonksiyonel özellikleri ve probiyotik olarak kullanımı. Süt Dünyası Dergisi, 7:40, <https://dergi.sutdunyasi.com/makaleler/bilimsel/lactobacillus-reuteri-fonksiyonel-ozellikleri-ve-probiyotik-olarak-kullanimi/> (Erişim Tarihi: 7.4.2021)

Ünal, E. ve Erginkaya, Z. (2010). Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4: 297-304.

Yaşlı, B. (2010). *Lactobacillus acidophilus* KPb1 ve *Lactobacillus reuteri* NRRL B-14171 probiyotik kültürlerinin koazervasyon yöntemi ile kaplanmasının ve dondurmaya ilavesinin kültürlerin canlılık düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu, Yüksek Lisans Tezi-97s.