



Probiyotiklerin Enkapsülasyonunda Kullanılan Teknikler

Hamza Goktas^{1*}

^{1*} İstinye Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, İstanbul, Türkiye, (ORCID: 0000-0001-9802-9378), hamzagoktas@yandex.com

(İlk Geliş Tarihi 1 Kasım 2024 ve Kabul Tarihi 28 Kasım 2024)

(DOI: 10.5281/zenodo.14237623)

ATIF/REFERENCE: Goktas, H. (2024). Probiyotiklerin Enkapsülasyonunda Kullanılan Teknikler. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (54), 152-160.

Öz

Sağlıklı beslenmeye olan talep her geçen gün giderek artmaktadır. Probiyotiklerin insan sağlığına faydalı birçok etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle probiyotik tüketimi giderek artan bir popülerlik kazanmıştır. Bununla birlikte beklenen faydaya ulaşmaktaki en büyük risk probiyotik bakterilerin gıda içerisinde yeterli sayıda canlılığını devam ettirememesidir. Probiyotiklerin mide asitliğine dirençli olması, safra tuzu toleransı ve bununla birlikte bağırsak epitel hücrelerine tutunma gibi bazı önemli özelliklere sahip olması arzu edilmektedir. Bu kapsamda olmak üzere farklı araştırmacılar tarafından çeşitli enkapsülasyon teknikleri geliştirilerek probiyotiklerin bağırsak sistemi boyunca canlılığının sürdürülmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, emülsifikasyon, ekstrüzyon, elektrospinning gibi bazı enkapsülasyon teknikleri denenmiştir. Bu çalışmada probiyotikler, seçim kriterleri, probiyotiklerin uzun süre canlılığını koruma amacıyla uygulanan enkapsülasyon teknikleri ve kullanılan enkapsülasyon materyalleri hakkında detaylı bilgi sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Probiyotikler, Enkapsülasyon, Probiyotik seçim kriterleri, Enkapsülasyon ajanları.

Techniques Used in Encapsulation of Probiotics

Abstract

The demand for healthy nutrition is growing at a rapid pace. Probiotics have been demonstrated to exert a range of salutary effects on human health. Consequently, there has been a notable rise in the consumption of probiotics. Nevertheless, one of the most significant challenges associated with probiotic consumption is the long-term survival of sufficient numbers of probiotics. It is desirable that probiotics possess certain essential characteristics, including resistance to gastric acidity, bile salt tolerance, and the ability to adhere to intestinal epithelial cells. In this context, a variety of encapsulation techniques have been developed with the objective of maintaining the survival of probiotics throughout the immune system. For this purpose, techniques such as spray drying, freeze drying, emulsification, extrusion, and electrospinning have been employed. This study presents detailed information regarding probiotics, selection criteria, encapsulation techniques applied to maintain the long-term survival of probiotics, and the encapsulation materials used.

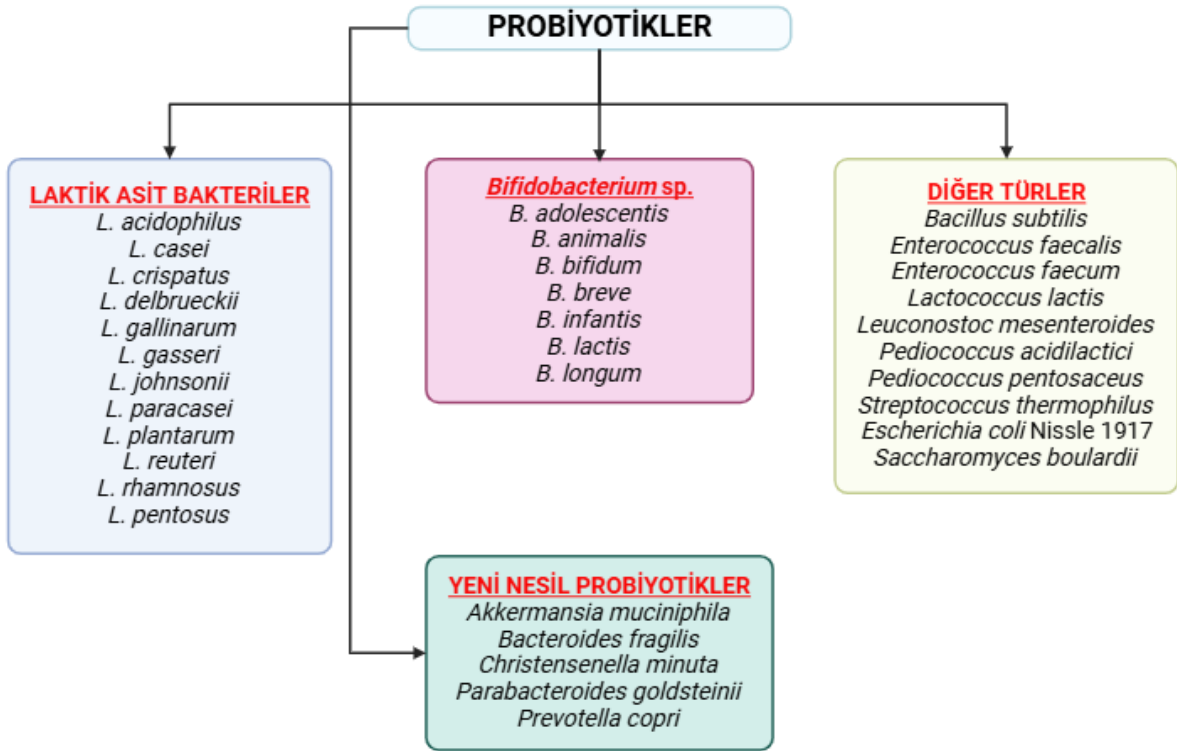
Keywords: Probiotics, Encapsulation, Probiotic selection criteria, Encapsulation agents.

* Sorumlu Yazar: hamzagoktas@yandex.com

1. Giriş

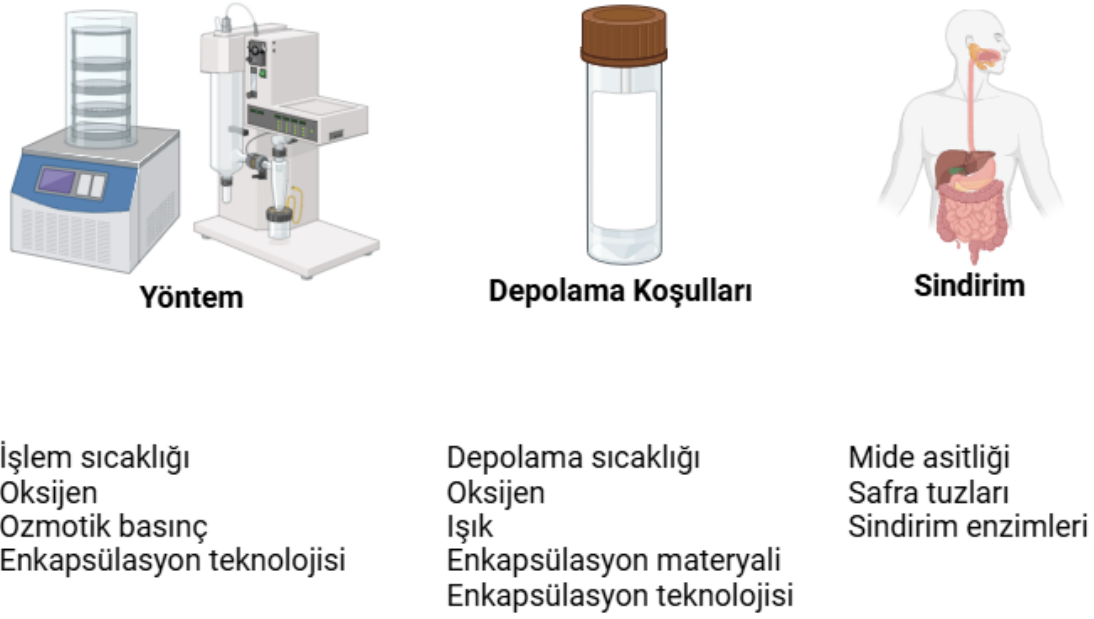
Probiyotikler, yeterli miktarda alındığında konakçı sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Misra vd., 2021). Tüketiciler, fermente gıda ürünleri veya tablet ve kapsül formundaki diyet takviyeleri vasıtasıyla probiyotikleri alabilmektedir (Misra vd., 2021). Son yıllarda, gıda tüketimi ve sağlıklı yaşam arasındaki pozitif korelasyon tüketiciler tarafından fark edilmiştir ve bu nedenle hastalıkların önlenmesi ve sağlıklı yaşam için probiyotik tüketimi popülerlik kazanmaktadır (Reque & Brandelli, 2021). Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine olumlu etkileri arasında bağırsak mikroflorasının dengelenmesi, patojenlere karşı mukozal savunmanın geliştirilmesi, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi, vitamin sentezinin teşvik edilmesi, anti-kanserojenik ve anti-bakteriyel aktivitenin sağlanması yer almaktadır (Sharifi vd., 2021).

Çok çeşitli mikroorganizma grupları, bakteriler ve mayalar, probiyotik olarak kabul edilmektedir. Sindirim sistemi boyunca canlılığını devam ettirebilen ve konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkiler sunan laktik asit bakterileri (LAB), laktik asit bakterileri haricindeki bakteriler ve mayalar, probiyotik olarak kabul edilmektedir (Burgain vd., 2011). Günümüzde en yaygın kullanılan probiyotikler arasında *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* gibi gram pozitif cinsler yer almaktadır (Mendes & Chronakis, 2021). Ayrıca *Escherichia coli* Nissle 1917 ve ayrıca bazı mayalar (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*) da probiyotik olarak kabul edilmektedir (Burgain vd., 2011; Goktas vd., 2021). Bununla birlikte, son yıllarda yeni nesil sekanslama tekniklerinin ortaya çıkması, daha önce keşfedilmemiş yeni mikroorganizmaların keşfedilmesine yol açmıştır (Torp vd., 2022). Bu kapsamda, *Akkermansia muciniphila*, *Eubacterium hallii* ve *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides* spp. disbiyozla ilişkili hastalıkları önleme ve tedavi etmede büyük umut vadeden potansiyel yeni nesil probiyotikler olarak kabul edilmektedir (Jan vd., 2024). Şekil 1'de probiyotik olarak kullanılan ve probiyotik olduğu varsayılan mikroorganizmalar özetlenmiştir.



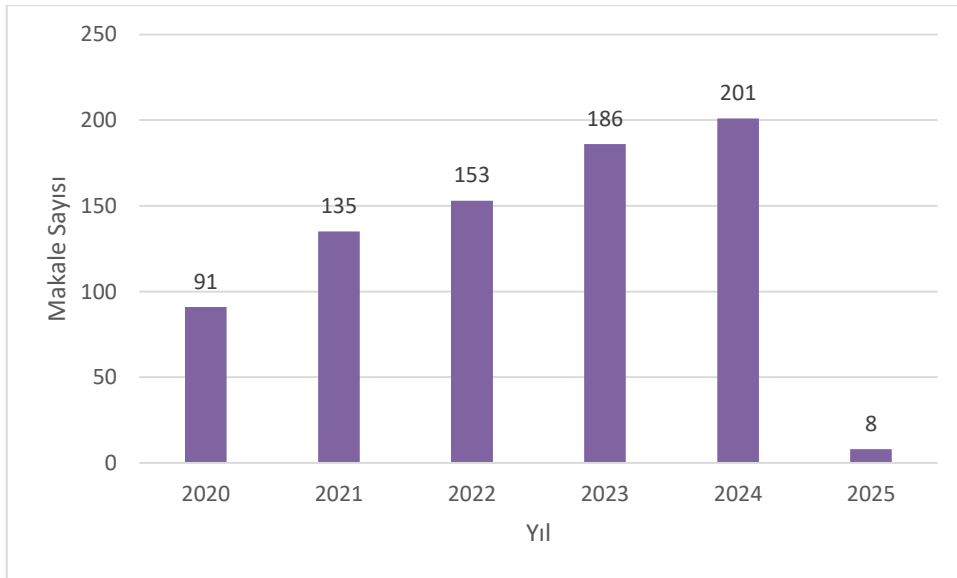
Şekil 1. Probiyotik olduğu varsayılan mikroorganizmalar

Probiyotiklerin yukarıda belirtilen sağlık yararlarını gösterebilmeleri için etki alanlarına kadar canlılığını devam ettirmesi gerekmektedir (Burgain vd., 2011). Birçok çalışmada, serbest probiyotik hücreleri içeren ürünlere probiyotik canlılığının düşük olduğu belirtilmiştir (de Vos vd., 2010). Bu nedenle, olumsuz çevre koşullarına karşı probiyotik canlılığının sağlanmasında fiziksel bir bariyer sağlanması gerekmektedir (Burgain vd., 2011). Bu kapsamda mikrokapsülasyon teknolojisi, probiyotiklerin canlılığını, gıdaların işlenmesi, depolanması ve tüketimden sonra gastrointestinal sistemdeki (GIT) yolculukları sırasında olumsuz çevre koşullarına karşı korumak için fiziksel bir bariyer sağlamaktadır (Mendes & Chronakis, 2021). Probiyotiklerin üretim, depolama ve sindirim sistemi boyunca canlılığını etkileyen temel faktörler Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Probiyotik canlılığını etkileyen temel faktörler

Enkapsülasyon teknolojisinin, bakterilerin hayatta kalmasını kolaylaştırması, hücre dönüşümünü teşvik etmesi ve güvenli dozajlamaya izin vermesi nedeniyle probiyotiklerin gıda matrisinde canlılığını ve stabilizasyonunu desteklemek için akıllıca bir alternatif olduğu kanıtlanmıştır (Niamah vd., 2021). Web of Science verileri dikkate alınarak 2020-2025 yılları arasında yapılan tarama sonucunda elde edilen ve probiyotiklerin enkapsülasyonuna yönelik yapıldığı anlaşılan araştırmalar incelendiğinde bu konuya ilişkin giderek artan bir ilginin olduğu görülmektedir. Bu kapsamda Web of Science verileri dikkate alındığında “probiotic” ve “encapsulation” terimleri kullanılarak yapılan taramaya ilişkin sayısal bilgiler Şekil 3’te gösterilmiştir.



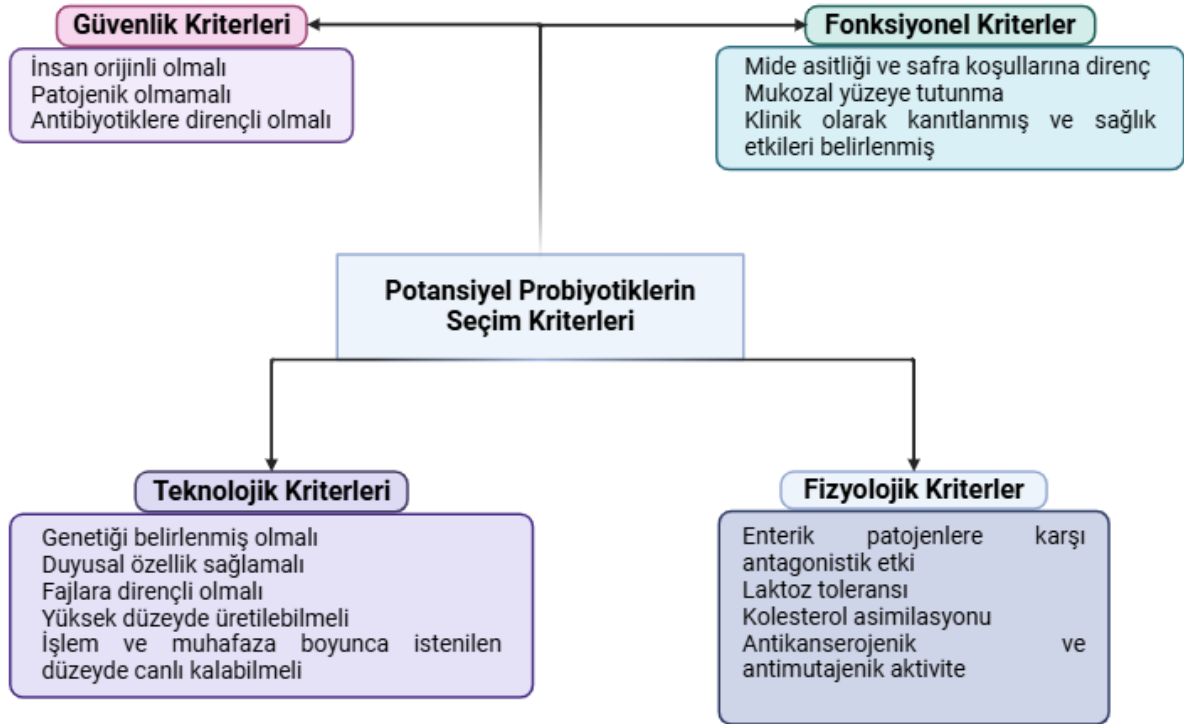
Şekil 3. 2020-2025 yılları arasında WOS'ta probiyotik ve enkapsülasyon alanında yayınlanan makale sayıları

Geleneksel ve yaygın olarak kullanılan enkapsülasyon teknolojisi, mikroenkapsülasyon teknolojisidir (Xu vd., 2022). Geleneksel mikroenkapsülasyon teknolojisi dört yöntemle ayrılır, bunlar; püskürtmeli kurutma, ekstrüzyon, dondurarak kurutma ve emülsifikasyon yöntemleridir (Zhang vd., 2024). Bu dört yöntem kullanılarak hazırlanan mikrokapsüller probiyotiklerin olumsuz ortamlara karşı dayanıklılığını artırabilir, ancak her yöntemin bazı dezavantajları vardır (Xu vd., 2022). Püskürterek soğutma, püskürtmeli dondurarak kurutma, katman/katman, akışkan yataklı kurutma ve titreşimli nozul gibi teknikler probiyotiklerin enkapsülasyonunda kullanılan diğer tekniklerdir (Safeer Abbas vd., 2023). Probiyotikler püskürtmeli kurutma sırasında ısı ve dehidratasyon stresine maruz kalırlar, bu

nedenle canlı probiyotik sayısında azalma olur. Ayrıca püskürterek kurutmanın maliyeti yüksektir ve zaman alıcı bir yöntemdir (Vü vd., 2021). Dondurarak kurutmada ise dondurma işleminin bir sonucu olarak buz kristalleri probiyotik mikroorganizmaların hücre zarına zarar verir ve sonuçta canlı probiyotik sayısında azalma olur. Ayrıca dondurarak kurutmanın diğer bir dezavantajı pahalı bir yöntem olmasıdır (Bommasamudram vd., 2022; Chen vd., 2022). Ekstrüzyon yönteminin koşulları püskürterek kurutma ve dondurarak kurutmaya göre kolaydır, ancak ekstrüzyonla hazırlanan mikrokapsüllerin boyutu nispeten büyüktür ve bu da uygulamasını sınırlar. Emülsifikasyon yöntemiyle hazırlanan mikrokapsüllerin boyutu ise 25 µm ile 2 mm arasında değişir ve şekillerini kontrol etmek zordur (Reque & Brandelli, 2021).

2. Probiyotiklerin Seçim Kriterleri

Probiyotik mikroorganizmalar suş bazında farklı özellikler gösterebilmektedir. Bu nedenle probiyotik mikroorganizmalar doğru ve uygun bir yöntemle enkapsüle edilmelidir (Şipailienė & Petraitytė, 2018). Probiyotik mikroorganizmaların seçim kriterleri arasında asit, ısı ve oksijen toleransı, epitele/dokuya tutunma ve kolonizasyon kapasitesi, bağışıklık tepkisini uyarma yeteneği, patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite/antagonizm, konakçı sindirimini iyileştirme yeteneği vb. yer almaktadır (Şekil 4) (Goktas vd., 2022; Iravani vd., 2015). Probiyotik suşlar homojenizasyon gibi hücre dışı streslere karşı farklı düzeylerde duyarlılık gösterebilmektedir. Mikroorganizmaların hücre morfolojisindeki farklılıklar mekanik streslere karşı dirençlerinde de değişkenliğe neden olmaktadır (Schär-Zammaretti & Ubbink, 2003). Ek olarak, kalın hücre duvarlarına sahip gram pozitif bakteriler, yüksek hızlı karıştırma veya homojenizasyon sırasında oluşan kayma kuvvetlerine tolerans gösterebilmektedir (Şipailienė & Petraitytė, 2018). Ayrıca, gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere göre termal ve mekanik streslere daha dirençli olduğu düşünülmektedir (Broeckx vd., 2016). Bakterilerin strese karşı direncinin gelişme evresine bağlı olduğu da bilinmektedir. Örneğin, mikroorganizmalar gelişim evresinin durağan fazında dehidrasyondan en az düzeyde etkilenmektedir (Şipailienė & Petraitytė, 2018). Enkapsülasyon teknolojisi için probiyotik seçimdeki diğer önemli kriterler, sıcaklık ve pH gibi enkapsülasyon işlemi sırasındaki koşullardır (Şipailienė & Petraitytė, 2018).



Şekil 4. Probiyotiklerin seçim kriterleri

3. Enkapsülasyon Teknikleri

3.1. Emülsifikasyon

Emülsifikasyon tekniği probiyotiklerin enkapsülasyonunda kullanılan yaygın yöntemlerden biridir. Bu yöntem, dispers faz ve sürekli faz olmak üzere iki fazdan meydana gelmektedir. Dispers faz hücre polimer süspansiyonu ve yağlardan (bitkisel yağ/mineral yağ) oluşurken, sürekli faz organik çözeltilerden oluşmaktadır. Emülsiyon, karışımın yüzey aktif maddelerin yardımıyla homojenleştirilmesiyle hazırlanır. Parçacıklar, suda çözünür polimeri çözünmez hale getirmek için bir çapraz bağlayıcı madde veya soğutma işlemi uygulanarak yağ fazı içinde oluşturulur. Üretilen mikrobuncuklar daha sonra santrifüj veya filtre edilir (Misra vd., 2021).

Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda iyonik jelleşme ile emülsifikasyon için aljinat, pektin, karragenan, sodyum karboksimetil selüloz, selüloz asetat fitalat, kitosan ve jelatin gibi hidrokolloidler ve bunların çözeltileri sürekli faz olarak, katılaştırıcı madde olarak da kalsiyum klorür kullanılmaktadır (Misra vd., 2021). Bu yöntem, daha küçük çaplı bir mikrokapsül ile birlikte daha yüksek probiyotik canlılığı için uygulanmaktadır (Chen & Chen, 2007). Başlıca dezavantajları arasında mikrokapsüllerin farklı şekil ve boyutlarda olması

ve hücreye ek kaplama için ikinci bir polimer çözeltisi gerektirmesi sayılabilir (Kailasapathy, 2009). Jelleşme ile emülsifikasyon işleminde süt proteinleri kullanılmaktadır. Çünkü süt proteinleri, jelleşme özelliğine sahiptir ve probiyotikler için doğal bir taşıyıcıdır (Livney, 2010).

3.2. Püskürterek Kurutma

Püskürterek kurutma tekniği gıda endüstrisinde kullanılan eski bir enkapsülasyon yöntemidir. Genel olarak, püskürtmeli kurutma yönteminde maltodekstrin, hidrofobik olarak modifiye edilmiş nişasta ve bunların karışımları, akasya zankı, aljinat, karboksimetil selüloz, guar zankı, soya proteini, peynir altı suyu proteini ve sodyum kazeinat probiyotiklerin enkapsülasyonunda kullanılan maddelerdir. Bu yöntem, esneklik sağlayan ve kaliteli ürünler üreten ekonomik ve yaygın olarak kullanılan bir işlemdir. Bu yöntemde, emülsiyon, çekirdek malzemenin polimerik bir çözeltiye dağıtılmasıyla oluşturulur, ardından homojenizasyon yapılır ve son olarak karışım, matris tipi mikrokapsüller üretmek için kurutma odasında atomize edilir (Misra vd., 2021).

Püskürterek kurutma işleminde, arzu edilen düzeyde probiyotik canlılık için giriş ve çıkış sıcaklıkları kontrol edilebilmektedir. Püskürterek kurutma, sıvı beslemenin 10–150 µm boyutunda ince damlacıklara atomize edilmesini ve ardından 150–250 °C sıcaklıktaki sıcak ve kuru havaya püskürtülmesini içermektedir. Püskürterek kurutma, dondurarak kurutmaya kıyasla daha az özgül enerji tüketmektedir. Püskürterek kurutma için probiyotik suş, ozmotik, oksidatif ve termal strese karşı dirençlerine göre seçilmelidir. *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Bifidobacterium* gibi farklı türler, yüksek sıcaklıkların uygulanması nedeniyle püskürterek kurutma koşullarına daha duyarlıdır. Su aktivitesinin azalması nedeniyle bakteriler ozmotik strese karşı dirençli hale gelir ve karbonhidratlar, amino asitler veya kuaterner aminler gibi uyumlu çözünenleri biriktirerek canlılıklarını devam ettirirler (Wood, 2011).

3.3. Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma veya diğer bir adı ile liyofilizasyon da mikrokapsüllenmiş probiyotiklerin depolanabilirliğini artırmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. İşlem, dondurma, birincil ve ikincil kurutma olmak üzere üç önemli adımdan oluşmaktadır (Misra vd., 2021). İyi bilinen bir kurutma yöntemi olmasına rağmen, bu işlem hücre zarına, yüzey proteinlerine ve hücre duvarına zarar verebileceği, hücredeki suyun hücre stabilitesini ve bütünlüğünü korumak için önemli bir rol oynaması nedeniyle kurutmadan sonra ortamdan ve hücreden uzaklaşması nedeni ile probiyotiklerin canlılığını azaltabileceği gibi birkaç dezavantaj içermektedir. Dondurarak kurutma pahalı ve zaman alıcı bir yöntemdir. Toz parçacıklarının üretimi ayrıca ek bir işlem gerektirmektedir (Maltesen & Van De Weert, 2008).

Uygun duvar malzemelerinin seçimi, işlem parametrelerinin optimizasyonu, dondurarak kurutmadan önce bakterinin strese girmesi gibi işlem ve parametreler dondurarak kurutma sırasında probiyotik suşun canlılığını etkilemektedir. Kriyoprotektanların kullanılmasının dondurarak kurutma sırasında probiyotik suşun canlılığını artırdığı belirtilmiştir. Dondurulmamış fraksiyonda bulunan probiyotik hücreler, buz kristallerinin oluşumu sırasında sıkıştırmaya tabi tutulur. Kriyoprotektanların uygulanması, probiyotiklere daha fazla alan sağlayan dondurulmamış fraksiyonu artırmakta ve böylece hücrelerin hücresel hasardan ve ozmotik veya mekanik stresten korunmasını sağlamaktadır (Misra vd., 2021).

3.4. Ekstrüzyon

Ekstrüzyon, daha yüksek hücre canlılığına sahip probiyotik suş elde etmek için yaygın olarak kullanılan basit ve düşük maliyetli bir teknolojidir (Krasaekoopt vd., 2008). Bu yöntemde, polimerik çözelti (genellikle hidrokolloid çözelti) mikrobiyal hücrelerle karıştırılır ve süspansiyon, bir şırınga iğnesi aracılığıyla yüksek basınçta bir çapraz bağlayıcı madde çözeltisine yansıtılır ve bu da jelleşmeyle sonuçlanır. Üretilen mikro kürelerin boyutunu polimerik çözeltinin viskozitesi ve akış hızı, polimer çözeltisinin konsantrasyonu ve sıcaklığı, deliğin çapı ve damla yüksekliği veya delikten çapraz bağlayıcı çözeltiye olan mesafe gibi faktörler etkilemektedir (Brun-Graepi vd., 2011). Ekstrüzyon işlemlerinde en büyük dezavantajlar, bu yöntemin 500 µm'den küçük mikrokapsüller üretmede yetersiz olması, büyük çaplı nozullara ihtiyaç duyulması ve ölçeklendirilmesi zor olan mikrokürelerin üretiminde gecikmeler olmasıdır (Burgain vd., 2011). Bu dezavantajların üstesinden gelmek için prilling ve santrifüjlü ekstrüzyon gibi farklı işlemler geliştirilmiştir. Prilling, damlacıkların kontrollü ortam koşullarında (püskürterek kurutmanın tersi) olduğu ve jet nozulunun titreşimi veya atımlarıyla gerçekleştirilen bir tekniktir. Santrifüjlü ekstrüzyon ise dönen bir silindirin dış çevresine yerleştirilmiş eş merkezli deliklerle donatılmış bir nozulu içeren co-ekstrüzyon prensibine dayanan başka bir işlemdir (Misra vd., 2021). Ayrıca, çoklu nozul sistemleri, akustik veya titreşim enerjisi, dönen disk atomizasyonu, sıvı jet kesme tekniği ve elektrostatik damlatma gibi bazı gelişmiş ekstrüzyon sistemleri mevcuttur (Rathore vd., 2013; Sultana vd., 2022). Titreşim teknolojisi, laminer bir sıvı jetinin üst üste binen titreşimle eşit büyüklükteki damlacıklara parçalanması ilkesine dayanmaktadır.

Ekstrüzyon yöntemi probiyotikler, ve omega-3 yağ asitleri gibi ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin kapsüle edilmesinde ideal bir tekniktir. Ancak büyük parçacıkların oluşumu ve yavaş bir teknik olması gıda endüstrisi açısından dezavantaj olarak kabul edilmektedir (Sultana vd., 2022). Bu noktada elektrostatik titreşim yöntemi alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Elektrostatik titreşim, polimerik sıvıların elektrohidrodinamik işlenmesine dayanan bir tekniktir. Bu teknik, besleme çözeltisini veya emülsiyonu, pompalandığı iletken bir kılcaldan topraklanmış bir toplayıcıya yüklü bir polimer jetinin püskürtüldüğü şekilde yüksek voltajlı bir elektrik alanına tabi tutmaktan oluşmaktadır. Sıvı içinde üretilen elektrostatik kuvvetler nedeniyle, jet küçük damlacıklara ayrılır ve çözücü, toplayıcıya kuru mikro veya nano parçacıklar halinde düşer (Gómez-Mascaraque vd., 2017). İşleyen (2018) elektrostatik titreşim yöntemiyle *L. acidophilus* KPb4b suşunu enkapsüle etmiştir.

3.5. Koaservasyon Yöntemi

Koaservasyon yöntemi ile enkapsülasyon, gıda, tarım, kozmetik, baskı, pestisit, yapıştırıcı ve ilaç endüstrileri gibi birçok alanda uygulama alanı bulması nedeniyle yakın geçmişte popülerlik kazanmıştır. Bu teknikte, koaservat belirli bir bileşim, sıcaklık veya pH'da

biyopolimerlerin faz ayrımıyla oluşmaktadır. Daha sonra, koaservatın çekirdek bileşenleri etrafında birikmesiyle mikroküre meydana gelmektedir (Gouin, 2004). Mikroküreler farklı enzimatik veya kimyasal çapraz bağlayıcı maddeler eklenerek güçlendirilebilir. Üretilen sıvı mikroküreler dispers fazdadır, bu nedenle kullanımı uygun değildir. Sıvı mikroküreler, kuru ürünlere kıyasla daha düşük probiyotik stabilitesi ve daha düşük raf ömrü ve daha yüksek işleme maliyetine neden olmaktadır ki bu da sürecin etkinliğini en aza indirmektedir. Bu nedenle sıvı mikrokürelerin su içeriğini azaltmak için çeşitli dehidrasyon yöntemleri uygulanmaktadır (Misra vd., 2021).

3.6. Elektrospraying Yöntemi

Koaservasyon, püskürtmeli kurutma veya emülsifikasyon teknolojileri gibi yüksek sıcaklık ve organik ajanların kullanımını içeren ve ısıya duyarlı kapsüllenmiş aktif maddelerin bozulmasına yol açan farklı teknikler vardır. Bu teknikler, organik kimyasallarla ilişkili toksisite nedeniyle bazı sorunları içerebilmektedir (Birnbaum vd., 2000). Bu nedenle yüksek sıcaklık uygulamasını ve organik ajanların kullanımını gerektirmeyen bazı alternatif teknikler kullanılmalıdır. Bu durumda, yaygın olarak elektrospraying yöntemi olarak bilinen yüksek voltajlı eğirme kullanılmaktadır. Basitliği, çok yönlülüğü ve nanometre ile mikro metre aralığında kapsüller üretilebilmesi nedeniyle avantajlı bir işlemdir. Bu işlem, iki elektrot arasına harici elektrik alanının uygulanmasını ve daha sonra sıcaklık gereksinimi olmadan bir polimer çözeltisine uygulanmasını içermektedir. Polisakarit ve protein gibi bazı doğal biyopolimerler, yüzey aktif malzemeler oldukları ve ayrıca gıda formülasyonlarını stabilize etmede daha büyük öneme sahip amfilik makromoleküller altında kategorize edildikleri için kapsülleme matrisleri olarak kullanılabilir (Misra vd., 2021).

4. Probiyotik Enkapsülasyonunda Kullanılan Maddeler

Enkapsülasyonun etkinliği ve mikroorganizmaların canlılığı yalnızca kültürün fizyolojisine ve işlem parametrelerine değil, aynı zamanda enkapsülasyon için kullanılan malzemelere de bağlıdır. Her bir bileşenin diğerleriyle nasıl etkileşime girdiğini anlamak hayati önem taşır ve enkapsülasyon matrisiyle bakteriyel etkileşimlerin iyi anlaşılması önemlidir. Probiyotik mikrokapsüllerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan polimerik malzemeler arasında aljinat, pektin, nişasta, kitosan, karboksimetil selüloz ve süt proteini yer almaktadır (Bu vd., 2024).

Tablo 1. Probiyotik enkapsülasyonunda kullanılan materyaller (Poshadri & Aparna, 2010)

Materyal türü	Enkapsülasyon materyali	Enkapsülasyon metodu
Karbonhidrat	Nişasta, Maltodekstrin, Kitosan, Mısır şurubu, Dekstrin, Modifiye nişasta	Püskürterek kurutma, Dondurarak kurutma, Ekstrüzyon, Koaservasyon
Selüloz	Karboksimetil selüloz, Selüloz, Etilselüloz, Selüloz asetat fitalat, Selüloz fitalat, Bütil fitalat	Koaservasyon, Püskürterek kurutma
Gam	Akasya gamı, Agar, Sodyum aljinat, Karragenan	Püskürterek kurutma
Lipit	Vaks, Parafin, Beeswax, Diaçil gliserol, Bitkisel yağlar,	Emülsifikasyon
Protein	Glüten, Kazein, Jelatin, Albümin, Peptitler	Emülsifikasyon, Püskürterek kurutma

4.1. Aljinat

Aljinat, çeşitli alg türlerinden elde edilen ve β -D-mannuronik ve α -L-guluronik asitlerden oluşan doğal olarak türetilen bir polisakarittir. Polimer zincirinin bileşimi, aljinatın kaynağına göre miktar ve ardışık dağılım açısından değişir ve bu, aljinatın destekleyici malzeme olarak işlevsel özelliklerini etkiler (Burgain vd., 2011). Aljinat hidrojelieri, hücre kapsüllenmesinde yaygın olarak kullanılır (Rowley vd., 1999) ve kalsiyum aljinat, basitliği, toksik olmaması, biyoyumluluğu ve düşük maliyeti nedeniyle probiyotik enkapsülasyonunda tercih edilmektedir (Krasaekoopt vd., 2003). Ancak, aljinat kullanımının asidik ortama duyarlılığı, elde edilen mikropartiküllerin çok gözenekli olması gibi bazı dezavantajları vardır (Burgain vd., 2011).

4.2. Gellan ve Ksantan Zamkı

Gellan zımkı, *Pseudomonas elodea*'dan türetilen ve glikoz, glukuronik asit, glikoz ve ramnoz olmak üzere dört monomerin tekrarlayan biriminden oluşan mikrobiyal bir polisakarittir (Chen & Chen, 2007). Ksantan-gellan zımkı karışımı, probiyotik hücreleri kapsüllemek için kullanılmaktadır (Sultana vd., 2000; Sun & Griffiths, 2000) ve aljinatın aksine, karışım asit koşullarına karşı yüksek direnç göstermektedir.

4.3. κ -Karragenan

κ -karragenan, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan doğal bir polimerdir. Hücreler polimer çözeltisine 40 ile 50 °C arasındaki bir sıcaklık değerinde eklenmektedir. Karışım oda sıcaklığına soğutarak jelleşme meydana gelir ve ardından mikropartiküller potasyum iyonları eklenerek stabilize edilmektedir (Krasaekoopt vd., 2003). Probiyotik hücrelerin κ -karragenan boncuklarına kapsüllemesi bakterilerin canlılığını sağlamaktadır ancak üretilen jeller kırılmalıdır ve strese dayanamaz (Burgain vd., 2011).

4.4. Selüloz asetat fitalat

Sağlam bir yapıya sahip olması nedeniyle, selüloz asetat fitalat bağırsakta ilaç salınımını kontrol etmek için kullanılır (Mortazavian vd., 2008). Bu bileşenin avantajı, asidik pH değerinde (5'ten az) çözünmemesi ancak 6'dan yüksek pH'ta çözünebilmesidir. Selüloz asetat fitalat kullanılarak probiyotik bakterilerin kapsüllemesi, simüle edilmiş gastrointestinal koşullarda mikroorganizmalar için iyi koruma sağlamaktadır (Burgain vd., 2011).

4.5. Kitosan

Kitosan, anyonlar ve polianyonların varlığında çapraz bağ oluşumu yoluyla polimerize olabilen glukozamin ünitelerinden oluşan doğrusal bir polisakkarittir. Bu bileşen, kapsülleme yoluyla hücre canlılığını artırmada iyi bir verimlilik göstermemiştir ve tercihen kaplama ajanı olarak kullanılmaktadır. Ancak bir kapsül olarak kullanılmamaktadır (Mortazavian vd., 2008). Probiyotik bakterilerin aljinat ve bir kitosan kaplama ile kapsüllemesi, simüle edilmiş gastrointestinal koşullarda koruma sağlar ve bu nedenle, canlı bakteri hücrelerinin kolona iletilmesi için iyi bir yoldur (Chávarri vd., 2010). Ancak kitosanın laktik asit bakterileri üzerinde inhibitör etkisi gibi bazı dezavantajları da vardır (Burgain vd., 2011).

4.6. Nişasta

Nişasta, glukozidik bağlarla bir araya getirilmiş çok sayıda glikoz biriminden oluşan bir polisakkarittir. Nişasta, esas olarak, α -1-4 glukozidik bağla birleştirilmiş D-glukopiranozun doğrusal bir polimeri olan amilozdan ve dallanma için α -1-4 glukozidik bağ ve α -1-6 glukozidik bağla birleştirilmiş dallanmış bir glikoz polimeri olan amilopektinden oluşmaktadır (Sajilata vd., 2006). Dirençli nişasta, ince bağırsakta pankreas enzimleri (amilazlar) tarafından sindirilmeyen nişastadır. Dirençli nişasta, fermente edileceği kolona ulaşabilir (Sajilata vd., 2006). Ayrıca, prebiyotik işlevselliği sayesinde dirençli nişasta, kalın bağırsaktaki probiyotik bakteriler tarafından kullanılabilir (Mortazavian vd., 2008). Son olarak, dirençli nişasta, probiyotik hücrelerin nişasta granüllerine yapışması için ideal bir yüzeydir (Anal & Singh, 2007) ve bu, probiyotiklerin bağırsaklara canlı ve metabolik olarak aktif bir durumda taşınmasını sağlayabilir (Burgain vd., 2011).

4.7. Jelatin

Jelatin, sıcaklıkla tersinir bir jel oluşturan ve tek başına veya diğer bileşiklerle birlikte probiyotik kapsülleme için kullanılan bir proteindir. Amfoterik yapısı nedeniyle, gellan zıncığı gibi anyonik polisakkaritlerle iş birliği yapmak için mükemmel bir adaydır. Bu hidrokolloidler, 6'dan yüksek bir pH değerinde karışabilir, çünkü her ikisi de net negatif yükler taşır ve birbirlerini iter. Ancak pH izoelektrik noktanın altına ayarlandığında jelatinin net yükü pozitif hale gelir ve bu durum negatif yüklü gellan zıncığı ile güçlü bir etkileşimin oluşmasına neden olur (Anal & Singh, 2007; Krasaekoopt vd., 2003).

4.8. Süt Proteinleri

Süt proteinleri, probiyotik hücreler için doğal taşıyıcılardır ve yapısal ve fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle bir iletim sistemi olarak kullanılabilirler (Livney, 2010).

5. Sonuç

Probiyotik tüketimi giderek artan bir ilgiye sahiptir. Probiyotiklerin izolasyonundan, tanımlanması ve seçimine kadar bir dizi farklı yöntem kullanılmaktadır. Bununla birlikte arzu edilen düzeyde canlı probiyotik sayısı için birçok enkapsülasyon teknolojisi ve enkapsülasyon materyali geliştirilmiştir. Ancak halen arzu edilen düzeyde canlı probiyotik sayısına ulaşmak, çözülmemiş bir sorun olarak durmaktadır. Arzulanan canlı probiyotik bakteri sayısına ulaşmakta pek çok engel bulunmaktadır. Bu nedenle bu sorunu gidermeye dönük uygun teknolojilerin ortaya çıkartılmasına ihtiyaç vardır. Enkapsülasyon teknolojilerinin uygulanması sırasında probiyotik canlılığında kayıplar meydana gelmektedir. Bunun yanında uzun süreli depolama koşullarında da bazı kayıplar meydana gelmektedir. Bu nedenlerle yüksek probiyotik canlılığını sağlayabilmek için uygun yeni sistemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Son olarak gelecek çalışmaların yeni teknolojilerle birlikte farklı enkapsülasyon materyallerinin birlikte kullanımına odaklanması doğru bir strateji olacaktır.

Kaynakça

- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251.
- Birnbaum, D. T., Kosmala, J. D., Henthorn, D. B., & Brannon-Peppas, L. (2000). Controlled release of β -estradiol from PLAGA microparticles:: The effect of organic phase solvent on encapsulation and release. *Journal of Controlled Release*, 65(3), 375-387.
- Bommasamudram, J., Muthu, A., & Devappa, S. (2022). Effect of sub-lethal heat stress on viability of *Lactocaseibacillus casei* N in spray-dried powders. *LWT-Food Science and Technology*, 155, 112904.
- Broeckx, G., Vandenhevel, D., Claes, I. J., Lebeer, S., & Kiekens, F. (2016). Drying techniques of probiotic bacteria as an important step towards the development of novel pharmabiotics. *International Journal of Pharmaceutics*, 505(1-2), 303-318.

- Brun-Graeppi, A. K. A. S., Richard, C., Bessodes, M., Scherman, D., & Merten, O.-W. (2011). Cell microcarriers and microcapsules of stimuli-responsive polymers. *Journal of Controlled Release*, 149(3), 209-224.
- Bu, W., McClements, D. J., Zhang, Z., Zhang, R., Jin, Z., & Chen, L. (2024). Encapsulation method of probiotic embedded delivery system and its application in food. *Food Hydrocolloids*, 110625.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & del Carmen Villarán, M. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185-189.
- Chen, M. J., & Chen, K. N. (2007). Applications of probiotic encapsulation in dairy products. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*, 83-112.
- Chen, Z., Jingjing, E., Ma, R., Zhang, J., Yao, C., Wang, R.,... Wang, J. (2022). The effect of aspartic acid on the freeze-drying survival rate of *Lactobacillus plantarum* LIP-1 and its inherent mechanism. *LWT-Food Science and Technology*, 155, 112929.
- de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), 292-302.
- Goktas, H., Dertli, E., & Sagdic, O. (2021). Comparison of functional characteristics of distinct *Saccharomyces boulardii* strains isolated from commercial food supplements. *LWT-Food Science and Technology*, 136, 110340.
- Goktas, H., Dikmen, H., Bekiroglu, H., Cebi, N., Dertli, E., & Sagdic, O. (2022). Characteristics of functional ice cream produced with probiotic *Saccharomyces boulardii* in combination with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *LWT-Food Science and Technology*, 153, 112489.
- Gómez-Mascaraque, L. G., Perez-Masiá, R., González-Barrio, R., Periago, M. J., & López-Rubio, A. (2017). Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of β -carotene. *Food Hydrocolloids*, 73, 1-12.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 330-347.
- Iravani, S., Korbekandi, H., & Mirmohammadi, S. V. (2015). Technology and potential applications of probiotic encapsulation in fermented milk products. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4679-4696.
- İşleyen, M. F. (2018). *Lactobacillus acidophilus* KPb4b suşunun farklı yöntemlerle mikroenkapsülasyonu ve bu yöntemlerin bakteri canlılığı üzerine etkilerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi. Doktora Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Jan, T., Negi, R., Sharma, B., Kumar, S., Singh, S., Rai, A. K.,...Kaur, T. (2024). Next generation probiotics for human health: An emerging perspective. *Heliyon*, (10), e35980.
- Kailasapathy, K. (2009). Encapsulation technologies for functional foods and nutraceutical product development. *CABI Reviews*, pp. 1-19.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13(1), 3-13.
- Krasaekoopt, W., Pianjareonlap, R., & Kittisuriyanont, K. (2008). Survival of probiotics in fruit juices during refrigerated storage. *Thai Journal of Biotechnology*, 8(1), 129-133.
- Livney, Y. D. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(1-2), 73-83.
- Maltesen, M. J., & Van De Weert, M. (2008). Drying methods for protein pharmaceuticals. *Drug Discovery Today: Technologies*, 5(2-3), e81-e88.
- Mendes, A. C., & Chronakis, I. S. (2021). Electrohydrodynamic encapsulation of probiotics: A review. *Food Hydrocolloids*, 117, 106688.
- Misra, S., Pandey, P., & Mishra, H. N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 340-351.
- Mortazavian, A., Azizi, A., Ehsani, M., Razavi, S., Mousavi, S., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. (2008). Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Milchwissenschaft*, 63(4), 427.
- Niamah, A. K., Al-Sahlany, S. T. G., Ibrahim, S. A., Verma, D. K., Thakur, M., Singh, S.,...Utama, G. L. (2021). Electro-hydrodynamic processing for encapsulation of probiotics: A review on recent trends, technological development, challenges and future prospect. *Food Bioscience*, 44, 101458.
- Poshadri, A., & Aparna, K. (2010). Microencapsulation technology: a review. *Journal of Research ANGRAU*, 38(1), 86-102.
- Rathore, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W., & Heng, P. W. S. (2013). Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 369-381.
- Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 1-10.
- Rowley, J. A., Madlambayan, G., & Mooney, D. J. (1999). Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials*, 20(1), 45-53.
- Safeer Abbas, M., Afzaal, M., Saeed, F., Asghar, A., Jianfeng, L., Ahmad, A.,...Shah, Y. A. (2023). Probiotic viability as affected by encapsulation materials: Recent updates and perspectives. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1324-1350.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17.
- Schär-Zammaretti, P., & Ubbink, J. (2003). The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations. *Biophysical Journal*, 85(6), 4076-4092.

- Sharifi, S., Rezazad-Bari, M., Alizadeh, M., Almasi, H., & Amiri, S. (2021). Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese. *Food Hydrocolloids*, *113*, 106496.
- Šipailienė, A., & Petraitytė, S. (2018). Encapsulation of probiotics: proper selection of the probiotic strain and the influence of encapsulation technology and materials on the viability of encapsulated microorganisms. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *10*, 1-10.
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., & Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, *62(1-2)*, 47-55.
- Sultana, M., Chan, E.-S., Pushpamalar, J., & Choo, W. S. (2022). Advances in extrusion-dripping encapsulation of probiotics and omega-3 rich oils. *Trends in Food Science & Technology*, *123*, 69-86.
- Sun, W., & Griffiths, M. W. (2000). Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, *61(1)*, 17-25.
- Torp, A. M., Bahl, M. I., Boisen, A., & Licht, T. R. (2022). Optimizing oral delivery of next generation probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, *119*, 101-109.
- Vũ, P. D. H., Rodklongtan, A., & Chitprasert, P. (2021). Whey protein isolate-lignin complexes as encapsulating agents for enhanced survival during spray drying, storage, and in vitro gastrointestinal passage of *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5. *LWT-Food Science and Technology*, *148*, 111725.
- Wood, J. M. (2011). Bacterial osmoregulation: a paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annual Review of Microbiology*, *65(1)*, 215-238.
- Xu, C., Ban, Q., Wang, W., Hou, J., & Jiang, Z. (2022). Novel nano-encapsulated probiotic agents: Encapsulate materials, delivery, and encapsulation systems. *Journal of Controlled Release*, *349*, 184-205.
- Zhang, L., Hu, Y., Jiang, L., & Huang, H. (2024). Microbial encapsulation and targeted delivery mechanisms of double emulsion loaded with probiotics—a state-of-art review. *Food Reviews International*, *40(6)*, 1731-1755.