

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN PÜSKÜRTEREK DONDURMA
VE KURUTMA TEKNİKLERİYLE MİKROENKAPSÜLE EDİLEREK
PROBİYOTİK KEK ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARININ
ARAŞTIRILMASI**

SULTAN ARSLAN TONTUL

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

2017

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN PÜSKÜRTEREK DONDURMA
VE KURUTMA TEKNİKLERİYLE MİKROENKAPSÜLE EDİLEREK
PROBİYOTİK KEK ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARININ
ARAŞTIRILMASI**

SULTAN ARSLAN TONTUL

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez çalışması Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından 0422.STZ.2013-2
proje numarasıyla desteklenmiştir.**

2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN PÜSKÜRTEREK DONDURMA
VE KURUTMA TEKNİKLERİYLE MİKROENKAPSÜLE EDİLEREK
PROBİYOTİK KEK ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARININ
ARAŞTIRILMASI**

SULTAN ARSLAN TONTUL

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 25/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

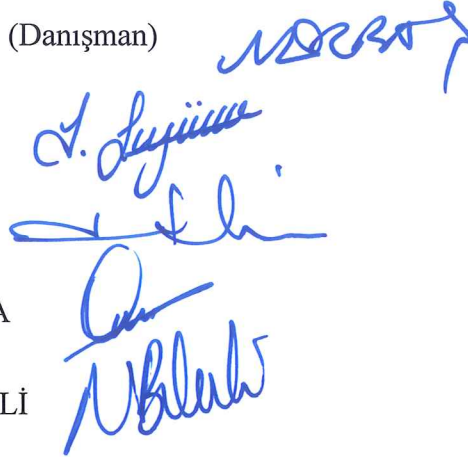
Doç. Dr. Mustafa ERBAŞ (Danışman)

Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Prof. Dr. Mehmet İNAN

Prof. Dr. Berrin ÖZKAYA

Prof. Dr. Nermin BİLGİÇLİ



ÖZET

PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN PÜSKÜRTEREK DONDURMA VE KURUTMA TEKNİKLERİYLE MİKROENKAPSÜLE EDİLEREK PROBİYOTİK KEK ÜRETİMİNDE KULLANIM İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

SULTAN ARSLAN TONTUL

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa ERBAŞ

Mayıs 2017, 129 sayfa

Günümüzde probiyotik gıda geliştirme çalışmalarında probiyotik mikroorganizmalar, çoğunlukla gıdalara pişirme sonrası işlemlerle ilave edilmektedir. Ancak ısı stabilizasyonu yüksek matriks içerisinde tutuklanan probiyotik mikrokapsüller her türlü prosesle her türlü gıdaya uygulanabilme imkânı sağlamaktadır. Probiyotik mikroorganizmaları içeren fırıncılık ürünlerinin artırılması ancak yeni ve sıcaklık toleransı yüksek probiyotik mikrokapsüllerin üretimi ile gerçekleştirilebilecektir. Bu nedenlerle probiyotik mikroorganizmaların; ürünlerin işleme proseslerinden, depolama süreçlerinden ve sindirim sisteminin ekstrem şartlarından etkilenme oranını azaltacak püskürterek kurutma ve dondurma gibi farklı mikrokapsülasyon tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri ve bunların kombinasyonları kullanılarak probiyotik mikroorganizmaların (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12) tek ve çift katlı olarak mikrokapsüle edilmesi ve elde edilen bu mikrokapsüllerin sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek üretiminde kullanılması araştırılmıştır.

Üretilen mikrokapsüllerde *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı ve canlılığı, *in vitro* mide ve bağırsak direnç testi, ısı stabilizasyon testi, depolama stabilizasyon testi, nem ve su aktivitesi, verim ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, partikül boyutu, DSC ve SEM görüntüleme analizleri yapılmıştır. Üretilen kek örnekleri 90 gün boyunca +4°C’de depolanmış ve depolamanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde alınan örneklerde *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı ve canlılığı, pH ve titrasyon asitliği, tekstür ve duyu analizler gerçekleştirilmiştir.

Mikrokapsülasyon işlemi sonrasında en yüksek *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısının püskürterek dondurma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (P) elde edildiği ve bu değerlerin sırasıyla 8.21, 8.10 ve 8.25 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca işlem sonunda probiyotik mikroorganizma canlılıklarının püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yapılan *in vitro* mide testi sonuçlarına göre en iyi korumanın püskürterek dondurma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (P) sağlandığı ve 180 dakikalık test süresi sonunda tüm mikrokapsül örneklerinde probiyotik mikroorganizma canlılığının %79'un üzerinde olduğu tespit edilmiştir. *In vitro* bağırsak testi sonuçlarına göre ise *S. boulardii* ve *L. acidophilus* hücrelerinde en yüksek koruma sırasıyla 7.44 ve 7.11 log kob/g değerleri ile püskürterek kurutma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (GS) elde edilmiştir. Buna karşın test sonunda en yüksek *B. bifidum* sayısı ise 6.78 log kob/g ile püskürterek dondurma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde görülürken, püskürterek kurutma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllere kıyaslandığında %89 ile daha yüksek canlılık sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca test süresi sonunda tüm mikrokapsül örneklerinde canlılık değeri %74'ün üzerinde tespit edilmiştir.

Isıl stabilizasyon testi sonuçlarına göre çift katlı mikrokapsülasyon işleminin *S. boulardii* ve *B. bifidum* canlılığı üzerinde etkili olmadığı ancak *L. acidophilus* hücrelerinin canlılığını daha fazla koruduğu belirlenmiştir. Probiyotik mikroorganizma hücre sayılarının artan inkübasyon sıcaklığı ile azaldığı ve 80°C'de bekletme sonunda *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* canlılıklarının sırasıyla yaklaşık %28, %47 ve %48 olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın mikrokapsüle edilmemiş serbest probiyotik hücrelerin ise artan test sıcaklıklarında canlı kalamadığı belirlenmiştir.

Mikrokapsüllerin +4°C'de 45 gün boyunca yapılan depolama testi sonunda en yüksek korumanın püskürterek dondurma sistemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (P) sağlandığı belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda bu mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı sırasıyla 7.74, 6.86 ve 5.91 log kob/g olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda her üç probiyotik mikroorganizmanın da canlılıklarının %60'ın üzerinde korunduğu tespit edilmiştir.

Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesi değeri %4.41 ve 0.83 olarak ve püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesi değeri ise %11.00 ve 0.53 olarak belirlenmiştir. Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama partikül boyutu değerleri 24.06 ve 4.88 µm olarak ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri ise 612.54 ve 244.55 µm olarak belirlenmiştir.

Probiyotik mikroorganizma içeren mikrokapsüller ile yapılan sade kek üretimleri sonucunda; en yüksek *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayısının iç katmanı hidrofilik kaplama materyali kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ve dış katmanı ise hidrofobik kaplama materyali kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen çift katlı mikrokapsülde (P/GS) elde edildiği belirlenmiştir. Kek örneklerinde pişirme sonunda *S. boulardii* ve *L. acidophilus* canlılığının sırasıyla %67.4 ve %70.7 oranında korunduğu belirlenmiştir. Ancak mikrokapsül ilave edilen sade kek örneklerinde, canlı *B. bifidum* tespit edilememiştir.

Çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde depolamanın ilk gününde probiyotik mikroorganizma içeriği istenilen

seviyede ($>10^6$ kob/g) sağlanabilmiştir. Depolama süresi boyunca kek örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayısında azalış meydana gelmiş ancak en düşük azalış, püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (P) ve çikolata kreması dolgulu kek örneklerinde tespit edilmiştir.

Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde ise; püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri kullanılarak *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik mikroorganizmalarını içeren tek ve çift katlı mikrokapsüllerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen mikrokapsüllerden hidrofobik kaplama materyali kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen P mikrokapsülünün diğer mikrokapsül örnekleri ile kıyaslandığında yüksek canlılık ve ekstrem şartlara karşı yüksek koruma sağladığı belirlenmiştir. Çift katlı kaplama tekniğinin ise *L. acidophilus* hücrelerinin *in vitro* mide sistemi ve ısı direncini arttırdığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışması ile çift katlı probiyotik mikrokapsül örneğinin (P/GS), pişirme sırasında merkez sıcaklığı 102°C olan kek örneklerinde *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayılarını 10^3 log kob/g seviyesinde koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen P mikrokapsülü depolama sırasında çikolata kreması dolgulu ve marmelat dolgulu kek örneklerinde daha yüksek probiyotik mikroorganizma koruması sağladığı belirlenmiştir. Kek tipleri değerlendirildiğinde ise çikolata kreması dolgulu kek örneklerinin daha yüksek probiyotik mikroorganizma canlılığı sağladığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; iç katmanı Arap zıkkı/siklodekstrin karışımı ile püskürterek kurutma ve dış katmanı ise hidrojenize palm yağı ile püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen çift katlı mikrokapsülün (P/GS) kek miksine ilave edildikten ve kek pişirme işleminden sonra 10^3 log kob/g canlı probiyotik mikroorganizma sağladığı, *S. boulardii* ve *L. acidophilus* mikroorganizmalarının ısıl tabilizasyonu yüksek mikrokapsüller üretmek için uygun probiyotik mikroorganizmalar olduğu ve pişirme sonucu keklere probiyotik özellik kazandırmak için ise hidrojenize palm yağı kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin (P) çikolata dolgulu kek örneklerine uygulanmasının en uygun yöntem olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER : Mikroenkapsülasyon, püskürterek dondurma, püskürterek kurutma, probiyotik, fonksiyonel gıda, probiyotik kek

JÜRİ: Doç. Dr. Mustafa ERBAŞ (Danışman)

Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Prof. Dr. Mehmet İNAN

Prof. Dr. Berrin ÖZKAYA

Prof. Dr. Nermin BİLGİÇLİ

ABSTRACT

MICROENCAPSULATION OF PROBIOTIC MICROORGANISM BY SPRAY CHILLING AND DRYING TECHNIQUES AND USING POSSIBILITIES IN PROBITIC CAKE PRODUCTION

SULTAN ARSLAN TONTUL

Ph. D. Thesis in Food Engineering
Supervisor: Assoc. Dr. Mustafa ERBAŞ
May 2017, 129 pages

Nowadays, product development studies involving microencapsulated probiotic microorganisms are often applied after a heat treatment. However, probiotic microcapsules, which are encapsulated in a heat stabilized matrix, can be applied to all types of process and food. The improvement of bakery products containing probiotic microorganisms can only be achieved by the production of new, high temperature tolerant probiotic microcapsules. For these reasons, there is a need for different combined microencapsulation techniques, such as spray drying and chilling, for increasing the tolerance of probiotic microorganisms to extreme conditions occurring in food process, storage and digestive system.

In this study probiotic microorganisms (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12) were encapsulated as single and double layered by spray drying and chilling technics and using possibilities of these microcapsules in chocolate cream filled, marmalade filled and chocolate coated cakes were also investigated.

S. boulardii, *L. acidophilus* and *B. bifidum* enumeration, *in vitro* simulated gastric and intestinal test, heat stabilization test, storage stabilization test, moisture content and water activity, yield, tapped bulk density, particle size, DSC and SEM analysis were conducted with produced microcapsules. Additionally, cake samples were stored for 90 days at +4°C and microbiological, pH, titration acidity, texture and sensorial analysis were carried out by taken cake samples at 0th, 30th, 60th and 90th days.

After the microencapsulation process, the highest *S. boulardii*, *L. acidophilus* and *B. bifidum* count were determined in microcapsule of P and the counts were 8.21, 8.10 and 8.25 log cfu/g, respectively. Additionally, survivability of microcapsules produced by spray chilling was higher than spray drying.

According to *in vitro* gastric tests, the best protection was ensured in microcapsule of P and survivability of all probiotic microorganisms was more than 79% at the end of 180 min test period. The highest protection of *S. boulardii* and *L. acidophilus* was noted at microcapsule of GS *in vitro* intestinal tests and these counts were 7.44 and 7.11 log

cfu/g, respectively. However, *B. bifidum* count was 6.78 log cfu/g in microcapsule of P and good survivability was detected at microcapsule of GS (89%). Moreover, survivability of probiotic microorganisms was detected more than 74% in all microcapsules at the end of 180 min.

According to the results of the heat stabilization test, it was determined that the double layered microencapsulation did not affect the viability of *S. boulardii* and *B. bifidum*, but the survival of *L. acidophilus* was further protected. The counts of probiotics decreased with increasing incubation temperatures and *S. boulardii*, *L. acidophilus* and *B. bifidum* counts were determined as 28%, 47% and 48%, respectively at 80°C incubation temperature. On the other hand, non-microencapsulated free probiotic cells could not survive at increasing test temperatures.

The highest protection was detected in microcapsule of P at +4°C storage for 45 days. Throughout the storage period, *S. boulardii*, *L. acidophilus* and *B. bifidum* counts were determined as 7.74, 6.86 and 5.91 log cfu/g, respectively. The survivability rate of each three probiotics was more than 60% at the end of the storage.

Moisture content and water activity of microcapsules produced by spray chilling were 4.41% and 0.83, and these values were 11.00% and 0.53 for microcapsules produced by spray drying. Volume and surface mean diameter of microcapsules produced by spray drying were measured as 24.06 and 4.88 μm and these values were 612.54 and 244.55 μm for microcapsules produced by spray chilling.

It was determined that the highest count of *S. boulardii* and *L. acidophilus* was obtained in the double layered microcapsules produced in the spray drying using the hydrophilic coating material and the outer layer using the hydrophobic coating material in the spray chilling system. After baking, *S. boulardii* and *L. acidophilus* count was 67.4% and 70.7%, respectively. Whereas *B. bifidum* count was not detected in each of microcapsules.

On the first day of storage in chocolate cream filled, marmalade filled and chocolate covered cakes, the adequate probiotic microorganism number ($>10^6$ cfu/g) was achieved. However, during the storage period, the probiotic microorganisms count in the cake samples decreased, but the lowest decrease was detected in single layered microcapsules (P) produced by spraying chilling and in chocolate cream filled cake samples.

Consequently, *S. boulardii*, *L. acidophilus* and *B. bifidum* were microencapsulated by spray drying and spray chilling technique as single or double layered. It has been determined that the microcapsule produced in the spray chilling system by hydrophobic wall material provides high protection against extreme conditions when compared with other microcapsule samples. Additionally, the double layer microencapsulation has been increased the *in vitro* gastric system and heat resistance of *L. acidophilus*.

In this study, it was determined that double layered probiotic microcapsule sample (P/GS), ensured 10^3 log cfu/g survivability of *S. boulardii* and *L. acidophilus* in the cake samples with a central temperature of 102°C during baking. It was also found

microcapsule of P, produced by spraying chilling method, provided higher probiotic microorganism protection in chocolate cream and marmalade filled cake samples during storage. When cake types were considered, chocolate cream filled cake samples were found to provide higher probiotic microorganism viability.

As a result; double layered microcapsule (P / GS), inner layer produced with gum Arabic/cyclodextrin by spray drying and outer layer produced with hydrogenated palm oil by spray chilling in the cake mix, ensured 10^3 cfu/g probiotic microorganism survivability after baking of cakes. Additionally, it was determined that *S. boulardii* and *L. acidophilus* are suitable probiotic microorganisms for producing microcapsules with high thermal stability. It was evaluated that microcapsules produced with hydrogenated palm oil by spray chilling (P) could be used in chocolate cream filled cake due to producing probiotic cake.

KEYWORDS: Microencapsulation, spray chilling, spray drying, probiotic, functional food, probiotic cake

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Mustafa ERBAŞ (Supervisor)

Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Prof. Dr. Mehmet İNAN

Prof. Dr. Berrin ÖZKAYA

Prof. Dr. Nermin BİLGİÇLİ

ÖNSÖZ

Günümüzde tüketicilerin eğitim seviyesi ve sağlık bilincinin artmasıyla birlikte iyi hali koruyan, geliştiren ve hastalık oluşma riskini azaltan fonksiyonel gıdalara olan talep de artmıştır. Fonksiyonel gıdaların en önemli grubunu probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar oluşturmaktadır. Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli miktarda vücuda alındığında spesifik sağlık etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde probiyotik mikroorganizmaların gerek serbest formda gerekse ürün içerisinde sindirim sisteminin oksijen, asitlik, sindirim enzimleri ve safra tuzları gibi ekstrem çevre şartlarına dayanımının artırılması amacıyla mikroenkapsülasyon teknikleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışması ile püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri kullanılarak *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik mikroorganizmalarının mikroenkapsüle edilmesi ve elde edilen bu mikrokapsüllerin sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek üretimlerinde kullanılması amaçlanmıştır.

Bu araştırmanın planlanması ve gerçekleşmesinde bana yardım ve desteklerde bulunan danışman hocam Doç. Dr. Mustafa ERBAŞ'a, yardımları ve dostlukları ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan çalışma arkadaşlarım Zehra KASIMOĞLU, Arş. Gör. Ceren MUTLU, Uzman Cihadiye CANDAL, Arş. Gör. Özlem KILIÇ ve Arş. Gör. Atike Nur DURAK'a teşekkür ederim.

Projeye verdikleri maddi destek nedeniyle Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı'na (SANTEZ-0422.STZ.2013-2) ve ETİ Gıda San. Tic. A.Ş.'ye ve tarafıma verdikleri burs desteği (2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Doktora Burs Programı) nedeniyle Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu'na (TÜBİTAK) da teşekkür ederim.

Ayrıca, hayattaki en büyük şansım olan sevgili eşim Arş. Gör. Dr. İsmail TONTUL'a ve maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan; anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	2
2.1. Fonksiyonel Gıdalar	2
2.1.1. Probiyotik mikroorganizmalar ve sağlığı koruyucu etkileri.....	2
2.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Mikroenkapsülasyonu	3
2.2.1. Ekstrüzyon	5
2.2.2. Emülsiyon	7
2.2.3. Püskürterek kurutma (Spray drying)	8
2.2.4. Püskürterek dondurma (Spray chilling).....	12
2.3. Yeni Fonksiyonel Gıdaların Geliştirilmesi	15
2.3.1. Probiyotik taşıyıcı gıda olarak kek	17
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal	19
3.2. Metot	19
3.2.1. Probiyotik kültürlerin hazırlanması	19
3.2.2. Isıl stabilizasyonu yüksek mikrokapsül formülasyonunun belirlenmesi	20
3.2.3. Püskürterek kurutma yöntemi ile tek katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi.....	20
3.2.4. Püskürterek dondurma yöntemi ile tek katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretilmesi	21
3.2.5. Püskürterek kurutma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi	21
3.2.6. Püskürterek dondurma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi	22
3.2.7. Probiyotik kek üretimi	23
3.3. Mikrokapsül ve Kek Örneklerine Yapılan Analizler	25
3.3.1. Mikrobiyolojik analizler	25
3.3.2. <i>In vitro</i> mide ve bağırsak direnci	26
3.3.3. Isıl stabilizasyon testi.....	26
3.3.4. Nem miktarı.....	27
3.3.5. Su aktivitesi	27
3.3.6. pH ve titrasyon asitliği.....	27
3.3.7. Mikroenkapsülasyon verimi	27
3.3.8. Mikroenkapsülasyon etkinliği	27
3.3.9. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu	27
3.3.10. Parçacık boyutu	27
3.3.11. Termal özellikler.....	28
3.3.12. Morfolojik özellikler.....	28
3.3.13. Tekstür analizi	28

3.3.14. Duyusal analiz	28
3.3.15. İstatistiksel analizler	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Isıl Stabilizasyonu Yüksek Püskürterek Kurutma Formülasyonunun Belirlenmesi	29
4.1.1. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> içeriği üzerine etkisi	29
4.1.2. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> içeriği üzerine etkisi	31
4.1.3. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> içeriği üzerine etkisi.....	34
4.1.4. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma içeriği üzerine etkisi.....	37
4.2. Püskürterek Dondurma Formülasyonunun Belirlenmesi	38
4.3. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi İle Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Mikrobiyolojik Özellikleri	39
4.3.1. <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığı	39
4.3.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığı	40
4.3.3. <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığı.....	43
4.3.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma içerikleri.....	44
4.4. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin in vitro Mide sistemi Direnci	46
4.4.1. <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığı	46
4.4.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığı	48
4.4.3. <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığı.....	51
4.4.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin in vitro mide sistemi testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler	53
4.5. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin in vitro Bağırsak Sistemi Direnci.....	56
4.5.1. <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığı	56
4.5.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığı	58
4.5.3. <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığı.....	60
4.5.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin in vitro bağırsak sistemi testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler	62
4.6. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Isıl Stabilizasyonu	64
4.6.1. <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığı	64
4.6.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığı	67
4.6.3. <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığı.....	69

4.6.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler	71
4.7. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Depolama Stabilitesi	73
4.7.1. <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığı	73
4.7.2. <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığı	75
4.7.3. <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığı.....	77
4.7.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin depolama stabilizasyonu.....	78
4.8. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Nem İçeriği ve Su Aktivitesi.....	81
4.9. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Mikroenkapsülasyon Verimi ve Yığın Yoğunluğu.....	83
4.10. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Partikül Boyutu Değerleri	84
4.11. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Termal Özellikleri	86
4.12. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Morfolojik Özellikleri	87
4.13. Tek ve Çift Katlı Probiyotik Mikrokapsülleri İçeren Kek Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	91
4.13.1. Sade kek örneklerinin pişme öncesi ve sonrası mikrobiyolojik özellikleri	91
4.13.2. <i>S. boulardii</i> içeriği ve canlılığı	93
4.13.3. <i>L. acidophilus</i> içeriği.....	97
4.13.4. <i>B. bifidum</i> içeriği	101
4.14. Kek Örneklerinin pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri.....	106
4.15. Kek Örneklerinin Tekstürel Özellikleri.....	107
4.16. Kek Örneklerinin Duyusal Özellikleri	111
5. SONUÇ	114
6. KAYNAKLAR	120
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
kob	Koloni oluşturan birim
Log	Logaritma
mg	Miligram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
N	Normalite
rpm	Devir sayısı/Dakika
h	Saat
s	Saniye

Kısaltmalar

F	İstatistik hesaplamalarda F değeri
KO	Kareler ortalaması
SD	Serbestlik derecesi
PBS	Phosphate buffered saline Fosfat tampon tuzu
SEM	Scanning electron microscope Taramalı elektron mikroskobu
FOS	Fruktooligosakkarit
PAS	Peynir altı suyu
PASP	Peynir altı suyu proteini
PASPI	Peynir altı suyu protein izolatu
HPMC	Hidroksipropil metilselüloz
DSC	Differential Scanning Calorimetry Diferansiyel taramalı kalorimetri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Ekstrüzyon tekniği (a) Doğrusal nozul ve (b) Rotatif nozul.....	5
Şekil 2.2. Emülsiyon tekniği	7
Şekil 2.3. Püskürterek kurutma tekniği	9
Şekil 2.4. Püskürterek kurutma ile üretilen farklı mikrokapsül şekilleri	10
Şekil 2.5. Mikroenkapsülasyon yöntemleri sonucunda elde edilen ürünlerin partikül boyutları karşılaştırmaları	12
Şekil 2.6. (a) Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüller, (b) püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüller	14
Şekil 3.1. Tek ve çift katlı probiyotik mikroenkapsüllerin şematik gösterimi.....	22
Şekil 3.2. Sade kek üretimi	23
Şekil 3.3. Marmelat dolgulu kek üretimi	24
Şekil 3.4. Çikolata kreması dolgulu kek üretimi.....	24
Şekil 3.5. Çikolata kaplamalı kek üretimi.....	25
Şekil 4.1. Taşıyıcı materyal çeşidinin probiyotik mikroorganizma sayıları üzerine etkisi	37
Şekil 4.2. Farklı püskürterek kurutma giriş sıcaklıklarının probiyotik mikroorganizmalar üzerine etkisi.....	38
Şekil 4.3. Mikrokapsül örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayıları.....	45
Şekil 4.4. Mikrokapsül örneklerinin probiyotik mikroorganizma canlılıkları	45
Şekil 4.5. Mikrokapsüllerin in vitro mide ortam testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları.....	54
Şekil 4.6. Mikrokapsüllerin in vitro mide sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları	54
Şekil 4.7. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının in vitro mide sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi	55
Şekil 4.8. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının in vitro mide sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi	55
Şekil 4.9. Mikrokapsüllerin in vitro bağırsak sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları.....	63
Şekil 4.10. Mikrokapsüllerin in vitro bağırsak sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları	63
Şekil 4.11. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının in vitro bağırsak sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi.....	64
Şekil 4.12. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının in vitro bağırsak sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi	64
Şekil 4.13. Mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları.....	71
Şekil 4.14. Mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları	71
Şekil 4.15. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının ısı stabilizasyon testinde inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak değişimi	72
Şekil 4.16. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının ısı stabilizasyon testinde inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak değişimi	72

Şekil 4.17. Mikrokapsüllerin depolama stabilite testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları.....	79
Şekil 4.18. Mikrokapsüllerin depolama stabilite testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları	79
Şekil 4.19. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma hücre sayısının depolama süresine bağlı olarak değişimi	80
Şekil 4.20. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının depolama süresine bağlı olarak değişimi	80
Şekil 4.21. Mikrokapsüllerin DSC grafiği	87
Şekil 4.22. Tek ve çift katlı mikroenkapsüllerin stereo mikroskop görüntüsü	89
Şekil 4.23. Tek ve çift katlı mikroenkapsüllerin SEM görüntüsü.....	90
Şekil 4.24. Kek örneklerinin <i>S. boulardii</i> sayısının depolama süresi boyunca değişimi	105
Şekil 4.25. Kek örneklerinin <i>L. acidophilus</i> sayısının depolama süresi boyunca değişimi	105
Şekil 4.26. Kek örneklerinin <i>B. bifidum</i> sayısının depolama süresi boyunca değişimi	105

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik mikroorganizmalara sağladığı faydalar	4
Çizelge 2.2. Ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları	6
Çizelge 2.3. Emülsiyon yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları	8
Çizelge 2.4. Püskürterek kurutma yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları	11
Çizelge 2.5. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma sistemi arasındaki farklılıklar	13
Çizelge 2.6. Püskürterek dondurma yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları	14
Çizelge 2.7. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma ilave edilerek üretilen süt bazlı olmayan gıdalar	17
Çizelge 2.8. Mikroenkapsüle edilmiş probiyotikler ile üretilen tahıl bazlı gıdalar	18
Çizelge 3.1. Püskürterek kurutma sırasında kullanılan cihaz parametreleri	20
Çizelge 4.1. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu, kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>S. boulardii</i> sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri	30
Çizelge 4.2. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>S. boulardii</i> sayılarındaki değişime ait varyans analiz sonuçları	31
Çizelge 4.3. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>S. boulardii</i> sayılarındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	31
Çizelge 4.4. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>L. acidophilus</i> sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri	33
Çizelge 4.5. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>L. acidophilus</i> sayılarındaki değişime ait varyans analiz sonuçları	34
Çizelge 4.6. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>L. acidophilus</i> sayılarındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	34
Çizelge 4.7. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında <i>B. bifidum</i> sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri	35

Çizelge 4.8. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında <i>B. bifidum</i> sayılarındaki değişime ait varyans analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.9. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında <i>B. bifidum</i> sayılarındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	36
Çizelge 4.10. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri.....	40
Çizelge 4.11. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.12. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	40
Çizelge 4.13. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri.....	41
Çizelge 4.14. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.15. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	42
Çizelge 4.16. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri.....	44
Çizelge 4.17. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.18. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	44
Çizelge 4.19. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	47
Çizelge 4.20. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları.....	47
Çizelge 4.21. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve	

canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	48
Çizelge 4.22. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	50
Çizelge 4.23. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları.....	50
Çizelge 4.24. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	50
Çizelge 4.25. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	52
Çizelge 4.26. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.27. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığının <i>in vitro</i> mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	52
Çizelge 4.28. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	57
Çizelge 4.29. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait varyans analiz sonuçları.....	57
Çizelge 4.30. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	58
Çizelge 4.31. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri	59
Çizelge 4.32. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait varyans analiz sonuçları.....	59
Çizelge 4.33. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının	

ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	60
Çizelge 4.34. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri	61
Çizelge 4.35. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistemine direncine ait varyans analiz sonuçları	61
Çizelge 4.36. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısı ve canlılığının <i>in vitro</i> bağırsak sistemine direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	62
Çizelge 4.37. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri	66
Çizelge 4.38. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları	66
Çizelge 4.39. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	66
Çizelge 4.40. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri	67
Çizelge 4.41. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları	68
Çizelge 4.42. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	68
Çizelge 4.43. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri	70
Çizelge 4.44. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları	70
Çizelge 4.45. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	70
Çizelge 4.46. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri	74

Çizelge 4.47. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları.....	74
Çizelge 4.48. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>S. boulardii</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	74
Çizelge 4.49. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	76
Çizelge 4.50. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları	76
Çizelge 4.51. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>L. acidophilus</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	76
Çizelge 4.52. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	77
Çizelge 4.53. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları.....	78
Çizelge 4.54. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin <i>B. bifidum</i> sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	78
Çizelge 4.55. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesi ait I. ve II. tekerrür verileri.....	82
Çizelge 4.56. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesi ait varyans analiz sonuçları	82
Çizelge 4.57. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	83
Çizelge 4.58. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi ve yığın yoğunluğuna ait I. ve II. tekerrür verileri.....	84
Çizelge 4.59. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi ve yığın yoğunluğuna ait varyans analiz sonuçları	84
Çizelge 4.60. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	85
Çizelge 4.61. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine ait varyans analiz sonuçları	85

Çizelge 4.62. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	86
Çizelge 4.63. Mikrokapsüllerin termal özellikleri	87
Çizelge 4.64. Mikrokapsül kullanılarak üretilen sade kek örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayısının pişirme öncesi ve sonrası değişimi.....	92
Çizelge 4.65. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde <i>S. boulardii</i> sayısına ait I. ve II. tekerrür verileri	94
Çizelge 4.66. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde <i>S. boulardii</i> sayısına ait varyans analiz sonuçları	95
Çizelge 4.67. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde <i>S. boulardii</i> sayısına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	96
Çizelge 4.68. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince <i>L. acidophilus</i> sayısına ait I. ve II. tekerrür verileri.....	98
Çizelge 4.69. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince <i>L. acidophilus</i> sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	99
Çizelge 4.70. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince <i>L. acidophilus</i> sayısına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	100
Çizelge 4.71. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince <i>B. bifidum</i> sayısına ait I. ve II. tekerrür verileri	102
Çizelge 4.72. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde <i>B. bifidum</i> sayısına ait varyans analiz sonuçları	103
Çizelge 4.73. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince <i>B. bifidum</i> sayısına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	104
Çizelge 4.74. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerine ait I. ve II. tekerrür verileri	107
Çizelge 4.75. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerine ait varyans analiz sonuçları	107
Çizelge 4.76. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	107
Çizelge 4.77. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait I. ve II. tekerrür verileri.....	109
Çizelge 4.78. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait varyans analiz sonuçları.....	109
Çizelge 4.79. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	110

Çizelge 4.80. Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait I. ve II. Tekerrür verileri.....	112
Çizelge 4.81. Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait varyans analiz sonuçları.....	112
Çizelge 4.82. Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	113



1. GİRİŞ

Günümüzde tüketicilerin eğitim seviyesinin ve sağlık bilincinin artmasıyla birlikte iyi hali koruyan, geliştiren ve hastalık oluşma riskini azaltan fonksiyonel gıdalara olan talep de artmıştır. Fonksiyonel gıdalar; diyet ile gıda formunda tüketilen, sentetik bileşen içermeyen, besleyici etkisinin yanında biyoaktif bileşikler, prebiyotik bileşenler ve probiyotik mikroorganizmalar gibi etkenlerle hastalık oluşma riskini azaltan gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Erbaş 2006, Hardy 2000, Roberfroid 2000, Stanton vd 2005). Fonksiyonel gıdaların en önemli grubunu probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar oluşturmaktadır. Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli miktarda vücuda alındığında spesifik sağlık etkileri yaratan canlı hücreler olarak tanımlanmaktadır (FAO 2001).

Probiyotik mikroorganizmalar, patojenlere karşı inhibitör maddeler üreterek, besin rekabeti yaparak, tutunmalarını zorlaştırarak, kanserojenik ve mutajenik bileşiklere dönüşebilen toksinleri parçalayarak etkili olmaktadır (Sanders 1998, Stanton vd 2005). Probiyotik etkinin ortaya çıkabilmesi için günlük tüketilmesi gereken dozun en az 10^6 kob/g olduğu bildirilmektedir (Krasaekoopt vd 2003). Sindirim sisteminin oksijen, asitlik, sindirim enzimleri ve safra tuzları gibi ekstrem koşulları probiyotik mikroorganizmaların canlılığını olumsuz etkileyen temel faktörlerdir. Günümüzde probiyotik mikroorganizmaların gerek serbest formda gerekse ürün içerisinde bu tür zor çevre şartlarına dayanımının artırılması amacıyla mikroenkapsülasyon teknikleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Mikroenkapsülasyon işlemi ile, aktif materyal ve ortam koşulları arasında bir bariyer oluşturulması sonucu çevresel faktörlere karşı koruma sağlanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda en fazla kullanılan yöntemler ekstrüzyon, emülsiyon ve püskürterek kurutmadır. Bunların yanında ise püskürterek dondurma yöntemi de yeni bir teknik olarak son zamanlarda denenmektedir. Gıda teknolojisi alanında sınırlı sayıda araştırmada kullanılmış olan püskürterek dondurma tekniğinde, kaplama ajanı olarak hidroforobik karakterli lipid materyaller kullanılmaktadır. Kaplama materyallerinin hidroforobik özellikleri probiyotik mikroorganizmaların korunmasında birçok avantaj sağlamaktadır. Üretilen hidroforobik kapsüller gıda sistemlerinin yoğun hidrofilik ortamında açılmadan stabilize olarak kalabilmektedir. Tüketildikten sonra midenin asitliğinden etkilenmeden ince bağırsağa geçen mikrokapsüller, bağırsaklarda lipaz enzimlerince parçalanarak taşıdıkları probiyotik mikroorganizmaları serbest bırakabilmektedir.

Günümüzde mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizmalar içeren ürün geliştirme çalışmaları çoğunlukla, ısıl işlem sonrasında süt bazlı gıdalara ilave edilme şeklinde uygulanmaktadır. Ancak ısıl stabilizasyonu yüksek matriks içerisinde tutuklanan probiyotik mikrokapsüller her türlü proseste ve her türlü gıdaya uygulanabilme imkanı sağlamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışması ile püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik mikroorganizmalarının tek ve çift katlı olarak mikroenkapsüle edilmesi ve elde edilen bu mikrokapsüllerin sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek üretimlerinde kullanılması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Fonksiyonel Gıdalar

Günümüzde tüketiciler, satın aldıkları gıdaların besleyici özelliklerinin yanında hastalıklara karşı koruyucu etkilere de sahip olmasını istemektedir. Bu anlamda diyet ile gıda formunda tüketilen, besleyici etkisinin yanında, hastalık oluşma riskini azaltıcı ve sağlığı geliştirici özelliklere sahip fonksiyonel gıdalar önem kazanmaktadır (Betoret vd 2003, Erbaş 2006).

Fonksiyonel gıdalarla beslenmenin, vücut fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli etkileri bulunduğu bildirilmektedir (Betoret vd 2003, İşleten vd 2007). Son yıllarda sağlık üzerine olumlu etkileri olan vitamin, mineral, besinsel lif, omega-3 yağ asitleri ve bitkisel steroller gibi biyoaktif maddelerce zenginleştirilmiş, probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik bileşenler içeren fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi gıda bilimi ve teknolojisinin önemli konularından birisidir (Betoret vd 2003, Blandino vd 2003, İşleten vd 2007, Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Saarela vd 2000).

Fonksiyonel gıda pazarı tüm dünyada hızla gelişmektedir. Bu ürünlerin gıda pazarındaki payını 2015 yılında yaklaşık 29 milyar dolar olduğu ve bu oranın 2018 yılı itibari ile 38 milyar doları bulacağı tahmin edilmektedir (De Prisco ve Mauriello 2016). Tüketime sunulan bu gıda grubunun %60-70'ini ise probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar oluşturmaktadır (Tripathi ve Giri 2014).

2.1.1. Probiyotik mikroorganizmalar ve sağlığı koruyucu etkileri

Konukçusunun doğal mikroflora özelliklerini iyileştirerek, onun sağlığına faydalı etkileri olan mikroorganizmalar probiyotik olarak tanımlanmaktadır (FAO 2001). Probiyotikler, sağlığa faydalı etkilerinin yanı sıra son ürüne kazandırdıkları iyi duyuşsal özellikler, raf ömrünü uzatma ve düşük depolama maliyeti gibi faktörlerle de tüketim kolaylığı sağlamakta ve sahip oldukları lipolitik, proteolitik ve β -galaktozidik aktiviteleri ile de sindirime yardımcı olmaktadır (Alm 2009, Prado vd 2008).

Gıdalarda kullanılan probiyotik bakteriler genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine aittir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010). Bu bakteriler çoğunlukla gram pozitif, çubuk şekilli, spor oluşturmayan, katalaz negatif özellikte ve laktik asit üretme yeteneğindedirler. Ayrıca probiyotikler oksijen gereksinimlerine göre anaerobik veya fakültatif anaerobik karakterde olabilir (Huq vd 2013). İnsan ve hayvan sindirim sistemi mikroflorasının büyük çoğunluğunu oluşturan probiyotik mikroorganizmalar, karbonhidratça zengin ortamlarda gelişebilme yeteneğine sahiptir (Ilha vd 2015).

Probiyotik mikroorganizmaların sağlığa faydalı etkileri temelde kofaktör ve besin üretimi, bağlanma bölgeleri için patojenlerle yarışmaları ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi olmak üzere üç faktör sayesinde ortaya çıkmaktadır. Probiyotiklerin bu faydalı etkileri suşa özel olmakta ve bir suşun bu etkilerin tamamını birden göstermesi beklenmemektedir (Cook vd 2012).

Probiyotik mikroorganizmaların, sağlık üzerine en önemli etkisi günümüzde sık görülen bir kanser türü olan kolon kanseri oluşma riskini azaltmasıdır. Sindirim sisteminde gelişen mikrofloranın ürettiği bazı kanserojenik maddeler, probiyotik mikroorganizmalar tarafından parçalanarak kanser riski azaltılmaktadır (Laparra ve Sanz 2010, Senok vd 2005). Ayrıca probiyotik mikroorganizmaların, prebiyotik bileşenleri fermente etmesiyle ortaya çıkan asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri de kanser hücrelerini inhibe edici etki göstermektedir (Venter 2006).

Bağırsakta probiyotik mikroorganizmaların dengeli bir şekilde varlığı sağlık açısından çok önemli olup, yoklukları epitel doku zararlanmasından başlayarak birçok sağlık problemlerine neden olabilmektedir (Alm 2009). Kobaylar üzerinde yapılan çalışmalarda probiyotiklerin mide ve bağırsak enfeksiyonlarının engellenmesi, serum kolesterolünün ve trigliserit miktarının azaltılması, osteoporozun yavaşlatılması, bağışıklık sisteminin uyarılması, desteklenmesi ve alerjilerin azaltılması, vitamin üretimi ve mineral emiliminin artırılması üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Alm 2009, Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Saarela vd 2000).

Probiyotik mikroorganizmaların sağlık iyileştirici etkileri suşa özgü olduğundan, tek başlarına kullanılmayıp diğer suşlar ile birlikte kombine halde tüketilmeleri probiyotik etkinin daha hızlı ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Burgain vd 2011).

Bu mikroorganizmaların sağlığa faydalı etkilerini gösterebilmeleri için, sindirim sisteminin asit, baz, tuz ve düşük oksijen gibi ekstrem şartlarına karşı toleranslı, antibiyotiklere karşı dirençli, patojenlere karşı baskın ve bağırsakta çoğalarak epitel dokuya kolayca yerleşebilecek en az 10^6 kob/g seviyesinde olması gerektiği belirtilmektedir (Çakır ve Çakmakçı 2004, Prado vd 2008, Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010, Saarela vd 2000,). Ayrıca ölü probiyotik hücrelerin de anti-inflamatuar etki gösterdiği bildirilmektedir (Cook vd 2012).

Gıda bilimi ve teknolojisi alanında, probiyotiklerin gıda ürünlerinde kullanım imkanlarının ve gıdanın kalite özelliklerini değiştirmeden yeni tekniklerle probiyotiklerin gıda içerisinde korunması üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Günlük diyetle genellikle gıda formunda alınan probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmalarının artırılabilmesi için çeşitli koruyucu tekniklerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Geliştirilen bu yeni yöntemlerden mikroenkapsülasyon, probiyotik mikroorganizmaların gıdalara ilave edilmesinde ve ilave edilen probiyotiklerin korunarak insan bağırsak sistemine kadar ulaşmasına aracılık edebilen önemli bir tekniktir.

2.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Mikroenkapsülasyonu

Mikroenkapsülasyon, genel olarak katı, sıvı veya gazların kimyasal ve fiziksel bozunmalara karşı korunması amacıyla koruyucu bir tabaka içerisinde tutuklanmasını amaçlayan fizikokimyasal ve mekanik bir proses olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli mikroenkapsülasyon teknikleri ile üretilen mikrokapsül ise yarı geçirgen, yuvarlak, ince ve sıvı veya katı çekirdek materyalini güçlü bir şekilde çevreleyen bir duvara sahip partikül olarak tanımlanmaktadır. Kapsül içerisinde tutuklanan madde çekirdek materyal, yararlı yük, aktif materyal, dolum veya iç faz olarak isimlendirilebilir. Mikrokapsül dışını saran kaplayıcı tabaka ise duvar materyali, taşıyıcı, membran, kabuk ya da kaplama olarak

adlandırılabilir. İşlem sonunda kullanılan tekniğe ve istenilen özelliklere göre 1 mm'den μ m boyutuna kadar farklı büyüklüklerde kapsüller üretilmektedir. Günümüzde mikroenkapsülasyon uygulamaları; aktif materyalin kontrollü salınımı, aroma bileşenlerinin maskelenmesi, raf ömrünün uzatılması, bileşiklerin besinsel kaybının azaltılması gibi amaçlarla eczacılık, gıda, kimya, ziraat ve kozmetik gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Burgain vd 2011, Chambi vd 2008, De Prisco ve Mauriello 2016, Gamboa vd 2011, Huq vd 2013, Madene vd 2006).

Mikroenkapsülasyonda kullanılacak taşıyıcı materyaller genellikle polimer yapılı, toksik ve anti bakteriyel olmayan bileşiklerdir. Bu amaçla genellikle çözmek için organik çözücü gerektirmeyen, suda çözünür, doğal polisakkaritler veya proteinler kullanılmaktadır (Cook vd 2012).

Mikroenkapsülasyon işlemi, probiyotik mikroorganizmaların canlılığını arttırarak gıda sistemlerinde kullanımına imkan sağlayan etkili bir yöntemdir. Bu teknik ile çekirdek materyali yüksek asitlik, oksijen varlığı veya sindirim enzimleri gibi olumsuz çevresel faktörlerden korunmaktadır (Huq vd 2013). Probiyotik mikroorganizmalar özel işlemlerden geçirilerek uygun kaplama materyali ile enkapsüle edilmekte ve böylece proses ve depolama sırasında stabilizasyonu arttırılabilmektedir (Burgain vd 2011). Diyet ile tüketilen probiyotik bakteriler sağlığa faydalı etkilerini ancak canlı olarak kalın bağırsağa ulaşabildiklerinde gösterebilmektedirler. pH derecesi 2 ve daha düşük ortamda 1 saat sonunda başlangıç mikroorganizma konsantrasyonunun %25'inin kaybedildiği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada dondurularak kurutulduktan sonra ağız yoluyla alınan *S. boulardii* hücrelerinin sindirim süresi sonunda ancak %1'inin feçese geçebildiği tespit edilmiştir (Graff vd 2008). Mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik mikroorganizmalara sağladığı bazı avantajlar Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik mikroorganizmalara sağladığı faydalar (Champagne ve Fustier 2007)

-
- Oksijene hassas kültürlerin üretilmesi
 - Santrifüje hassas kültürlerin geri kazanımının arttırılması
 - Yüksek ekzopolisakkarit üreten kültürlerin geri kazanımının arttırılması
 - Kontaminasyon riskinin azaltılması
 - Kültürlerin hava akımında kurutulabilmesi
 - Mide şartlarında canlılığın arttırılması
 - Safra tuzu varlığında canlılığın arttırılması
 - Depolama sırasında canlılığın arttırılması
 - Yüksek sıcaklıklara karşı dayanımın arttırılması
 - Düşük sıcaklıklara karşı dayanımın arttırılması
 - Son üründe canlılığın arttırılması
 - Bakteriyofajlara karşı koruma
 - Maya kontaminasyon riskinin azaltılması
-

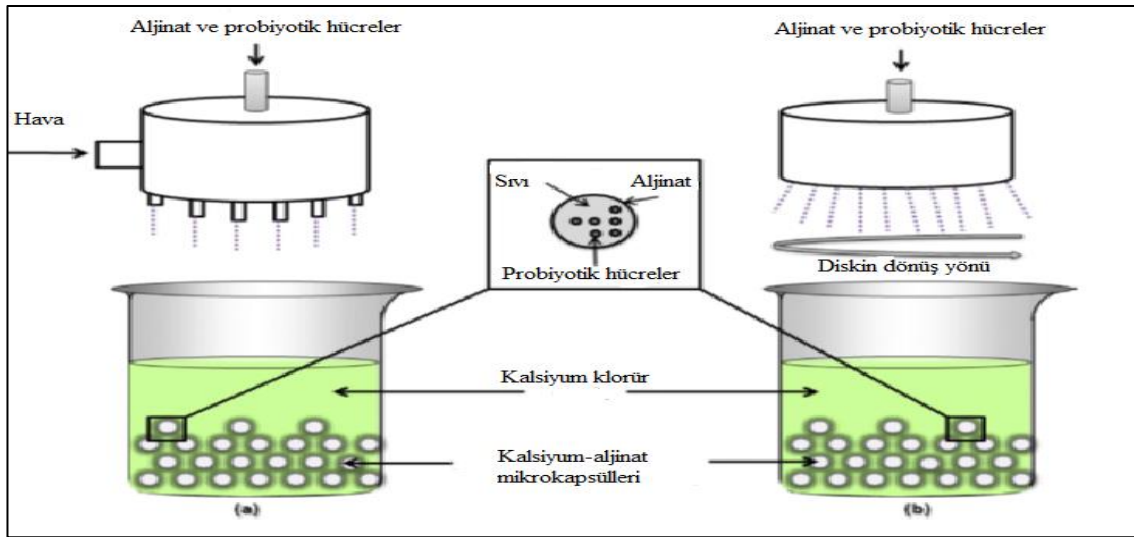
Probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonunda en fazla kullanılan teknikler ekstrüzyon, emülsiyon ve püskürterek kurutmadır (Cook vd 2012, Rokka ve Rantamaki 2010). Bu tekniklerden ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemi ile daha büyük boyutlarda mikrokapsüller üretilmektedir. Ancak partikül boyutu son ürünün kalite özelliklerini

etkilediğinden gıda sistemlerinde kullanılacak probiyotik mikrokapsüllerin üretiminde genellikle daha küçük partikül boyutu sağlayan püskürterek kurutma yöntemi tercih edilmektedir (Burgain vd 2011).

Mikroenkapsülasyon teknolojisi son 10 yılda hızla gelişmiş ve probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu alanında da birçok uygulama alanı bulmuştur. Ancak probiyotik bir maya olan *S. boulardii*'nin mikroenkapsülasyonu ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Ayrıca mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizmalar ve bunların gıda sistemlerinde kullanımı sonucunda proses ve depolama sırasında oluşan gıda-mikroorganizma interaksyonları konusunda da yeterli veri bulunmamaktadır (Graff 2008, Okuro vd 2013b, Reid vd 2007). Sonuç olarak probiyotik mikroorganizmaların yüksek canlılıkta mikroenkapsülasyonunda yeni taşıyıcı materyal kombinasyonlarının ve yeni tekniklerin ortaya çıkarılması önemli bir konudur (Cook vd 2012).

2.2.1. Ekstrüzyon

Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda uygulama kontrolü ve rahatlığı açısından kullanılan en yaygın metot ekstrüzyon metodudur (Heidebach vd 2012). Ekstrüzyon, temel olarak sıvı hidrokolloit çözeltisinin hazırlanması, konsantre probiyotik mikroorganizma kültürünün bu çözelti içerisine ilave edilmesi ve karışımın bir nozul yardımı ile katılaştırıcı çözelti içerisine verilmesi ile mikrokapsüllerin elde edilmesine dayanan fiziksel bir yöntemdir. Ekstrüzyon yöntemine ait işlem basamakları Şekil 2.1'de verilmiştir. Bu amaçla taşıyıcı materyal olarak genellikle aljinat, gellan gam, ksantan gam, karragenan, keçiyoynuzu gamı ya da bunların karışımının %0.75-4'lük çözeltisi kullanılmaktadır (Heidebach vd 2012, Huq vd 2013, Picot ve Lacroix 2003).



Şekil 2.1. Ekstrüzyon tekniği (a) Doğrusal nozul ve (b) Rotatif nozul (Burgain vd 2011)

Ekstrüzyon yönteminde en fazla tercih edilen hidrokolloit, ucuz ve doğal bir polimer olan aljinattır (Malmo vd 2013). Polisakkarit yapısında olan aljinat deniz yosunlarında ekstrakte edilmektedir. Viskozite arttırıcı, su bağlayıcı ve ürünlerde su salmayı engelleyici olarak halihazırda gıdalara katılanmaktadır (Huq vd 2013).

Ekstrüzyon yöntemi sonucunda çok farklı büyüklükte mikrokapsül üretilebilmekte olup kapsül boyutlarının 0.5-3 mm arasında değiştiği bildirilmektedir (Heidebach vd 2012). Partiküllerin boyutu temelde nozul çapı, nozul ve sertleştirici ajan arasındaki mesafe ve hidrokolloit çözeltisinin viskozitesine bağlı olarak değişmektedir (Anal ve Singh 2007). Ayrıca aljinat konsantrasyonunun artması doğrudan viskoziteyi etkilediğinden, işlem sonunda partikül boyutunu arttırdığı da rapor edilmektedir (Rokka ve Rantamaki 2010).

Ekstrüzyon yönteminin tercih edilmesinin en büyük nedeni, probiyotik mikroorganizmaların hücre membranına zarar vermeden yüksek canlılık oranı ile mikrokapsülasyon yapılmasına imkan tanınmasıdır (Huq vd 2013). Ekstrüzyon tekniği ile üretilen mikrokapsüllerde canlılık oldukça yüksektir (Krasaekoopt vd 2003). Yapılan bir çalışmada mikrokapsülasyon işleminden sonra *L. rhamnosus* hücrelerinde %96 canlılık elde edildiği rapor edilmiştir (Reid vd 2007). Gallo vd (2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *S. boulardii* hücrelerinin ekstrüzyon yöntemi ile mikrokapsülasyonunda canlılık oranının %90 olduğu bildirilmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların ekstrüzyon yöntemi kullanılarak mikrokapsüle edilmesi ile ilgili yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2.2’de verilmiştir.

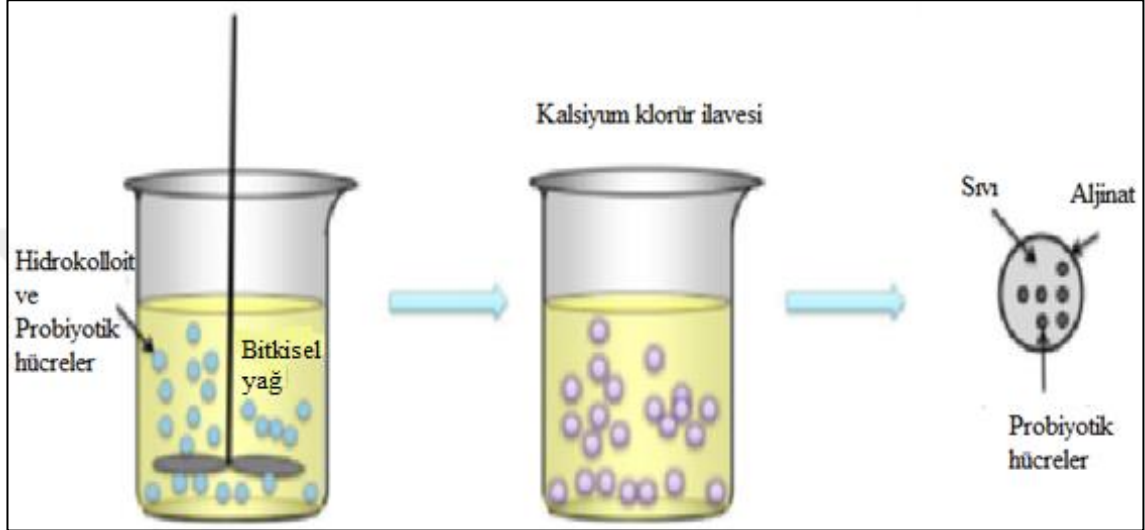
Çizelge 2.2. Ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları

Probiyotik	Materyal	Partikül boyutu	Kaynaklar
<i>B. lactis</i>	Gellan ve ksantan gam	20-2200 µm	McMaster vd (2005)
<i>L. reuteri</i>	Aljinat, gellan ve ksantan gam	2-4 mm	Muthukumarasamy vd (2006)
<i>L. acidophilus</i>	Aljinat	330-450 µm	Chandramouli vd (2004)
<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. bifidum</i>	Aljinat, kitosan, poli-L-lisin	1.62 mm	Krasaekoopt vd (2004)
<i>Lactococcus lactis</i>	Aljinat ve kitosan	1.89 mm	Zhou vd (1998)
<i>L. plantarum</i>	Aljinat, ksantan gam ve inülin	1.86-2.25 mm	Valero-Cases ve Frutos (2015)
<i>L. acidophilus</i>	Aljinat ve Hi-maize	55.13-55.56 µm	Etchepare vd (2016)
<i>B. bifidum</i>	Aljinat, çitosan, jelatin, pektin, karagenan, keçiyoynuzu gamı	30-100 µm	Zhang vd (2013)
<i>B. bifidum</i> , <i>L. acidophilus</i>	Karagenan		Ozer vd (2009)
<i>B. longum</i>	Aljinat		Amine vd (2014)

Ekstrüzyon yönteminin bir başka avantajı ise zararlı kimyasallar kullanılmadan doğal hidrokolloitlerle yürütülmesi ve hem aerobik hem de anaerobik ortamda gerçekleştirilebilmesidir. Ancak bu yöntemin dezavantajları arasında ise ölçek büyütmenin zor olması ve kapsül oluşumunun yavaş gerçekleşmesi sayılabilir (Picot ve Lacroix 2003).

2.2.2. Emülsiyon

Emülsiyon yöntemi, ekstrüzyon ile oldukça benzerdir. Bu yöntemdeki temel prensip, hazırlanan hidrokolloit çözeltisinin (sürekli faz) sertleştirici ajandan önce bir yağ fazı (sürekli faz) içerisinde dispersiye edilmesine dayanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaları içeren hidrokolloit çözeltisinin yağ fazı içerisinde daha iyi dağılabilmesi için emülsifikatörler ve sürfaktan kullanılması önerilmektedir (Burgain vd 2011). Emülsiyon tekniğinin işlem basamakları Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Emülsiyon tekniği (Burgain vd 2011)

Bu teknikte az miktardaki probiyotik mikroorganizma ve hidrokolloit karışımı, fazla miktardaki yağ içerisine ilave edilerek su/yağ emülsiyonu oluşana kadar karıştırılır. Mikroenkapsülasyonunun bu aşamasında homojen bir dağılım sağlanması açısından Tween 80 gibi emülsifikatörler kullanılabilir. Ardından sertleştirici ajan olarak kalsiyum klorür ilave edilerek kapsül formları elde edilir. Yağ fazı içerisinde dispersiye olmuş probiyotik/hidrokolloit karışımı sertleşerek kapsül formuna dönüşür. Emülsiyon tekniğinin bu basamağında partikül boyutunun kontrol edilmesi su/yağ fazının ne kadar iyi dispersiye olduğu ile ilgilidir. Ayrıca emülsifikatör kullanımı yüzey gerilimini de azaltacağından daha küçük kapsüller elde edilebilmektedir (Huq vd 2013, Krasaekoopt vd 2003, Picot ve Lacroix 2003).

Emülsiyon teknolojisi, gıda biliminde probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Emülsiyon tekniği, ekstrüzyon ile kıyaslandığında, ölçek büyümeye oldukça uygun olup kapasitesi kolayca artırılabilir. Ayrıca ekstrüzyon yöntemiyle kıyaslandığında daha küçük boyutta kapsüllerde elde edilebilmektedir. Ancak işlem sırasında sürekli faz olarak kullanılan bitkisel yağ, işlemden sonra tam olarak uzaklaştırılamadığından bazı istenmeyen durumlar ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle son zamanlarda protein veya polisakkarit yapısında sürekli fazların geliştirilmesi önerilmektedir (Heidebach vd 2012, Huq vd 2013, Krasaekoopt vd 2003, Picot ve Lacroix 2003). Probiyotik mikroorganizmaların

emülsiyon yöntemi kullanılarak mikroenkapsüle edilmesi ile ilgili yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Emülsiyon yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları

Probiyotik	Materyal	Boyut	Canlılık (%)	Kaynaklar
<i>L. salivarius</i>	Pektin, kazeinat	10-20 µm	84	Zhang vd (2015)
<i>L. paracasei</i>	Kazeinat			Wurth vd (2015)
<i>B. lactis</i>	Aljinat	77 µm	89	Holkem vd (2016)
<i>L. plantarum</i>	Aljinat	0.5-1 mm		Valero-Cases (2015)
<i>L. helveticus</i> , <i>L. lactis</i>	Aljinat, gellan gam			Rosas-Flores vd (2013)
<i>L. casei</i>	Kazeinat, gellan gam, kanola yağı	287 µm	71	Nag vd (2011)
<i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. brevis</i>	β-glukan, polietilen glikol		74	Shah vd (2016)
<i>B. bifidum</i>	Aljinat, çitosan, jelatin, pektin, karagenan, keçiyoynuzu gamı	13-20 µm	86	Zhang vd (2013)
<i>B. lactis</i>	Yağsız süt tozu, rennet	39-196 µm		Lisova vd (2013)
<i>L. paracasei</i>	Kazein, rennet	160 µm	110	Heidebach vd (2009)
<i>B. bifidum</i> , <i>L. acidophilus</i>	Karagenan			Ozer vd (2009)
<i>B. longum</i>	Aljinat		84	Amine vd (2014)

Ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemi probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda uygulama kolaylığı açısından yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak her iki yöntemde de üretilen mikrokapsül boyutları kontrol edilememekte ve çok geniş bir aralığa yayılmaktadır. Gıda ürünlerinde kullanılacak mikrokapsül boyutlarının organoleptik açıdan 100 µm’den daha küçük olması önerilmektedir (Burgain vd 2011). Bu nedenle son zamanlarda püskürterek kurutma sistemleri gibi daha küçük partikül boyutu sağlayan mikroenkapsülasyon teknikleri üzerine yoğunlaştırmıştır.

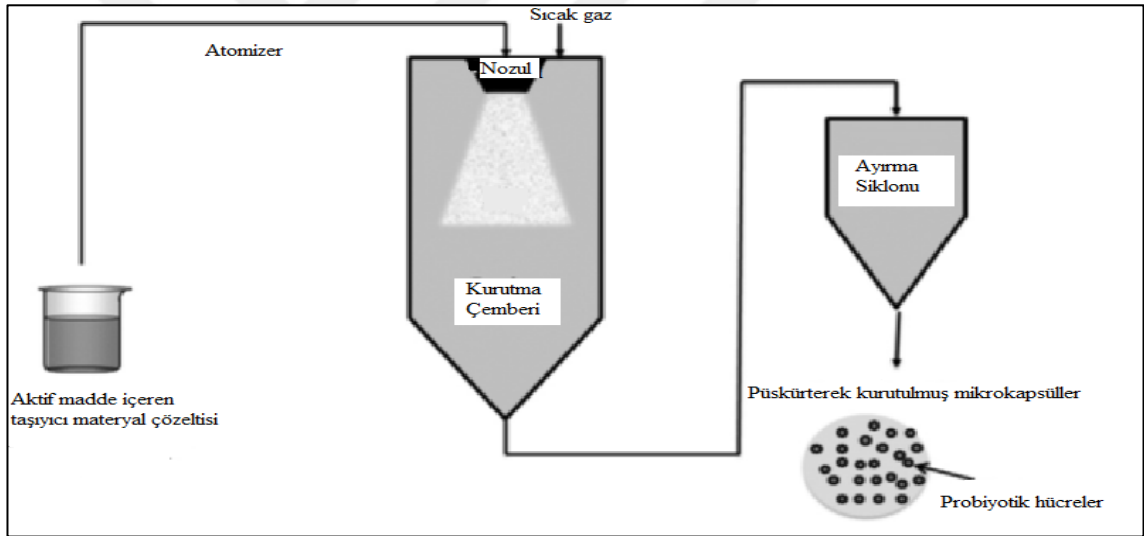
2.2.3. Püskürterek kurutma (Spray drying)

Püskürterek kurutma tekniği gıda sanayisinde temelde sıvı gıdaların kurutulması için kullanılan yaygın bir yöntem olmakla birlikte son yıllarda probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsül formuna dönüştürülmesi amacıyla sıkça da kullanılmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların püskürterek kurutulması fikri ilk olarak 1914 yılında laktik asit bakteri kültürlerinin kurutulması ile ortaya çıkmıştır. Ardından ise yöntemin hızı ve sürekli üretim imkanı gibi faktörler nedeniyle, yöntemin kullanımı artırmış ve daha çok çalışma imkanı tanınmıştır (Peighambardoust vd 2011).

Püskürterek kurutma, sıvı örneğin sıcak gaz ortamına püskürtülmesiyle anında toz ürün haline dönüşmesini sağlayan temel bir işlemdir. Kurutma sırasında genellikle kurutucu gaz olarak hava tercih edilmekle birlikte uçucu çözelti içeren bazı ekstraktlar

azot altında da kurutulabilmektedir. Püskürtülecek örnek bir çözelti, emülsiyon veya süspansiyon halinde olabilir (Gharsallaoui vd 2007). Kurutma süresi genellikle 5-100 s arasında olup (Corrigan 1995) iyi dizayn edilmiş bir sistemde, örnek beslendikten sonra 15-30 s sonunda toz halinde toplama kabından geri alınabilmektedir (Gharsallaoui vd 2007).

Yöntemin temel prensibi; farklı taşıyıcı polimerlerin su içerisinde çözünmesi ve bu çözelti içerisinde probiyotik mikroorganizma kültürlerinin ilavesinden sonra püskürterek kurutma sisteminde kurutulmasına dayanmaktadır. Püskürterek kurutma sisteminin şematik görünümü Şekil 2.3'te verilmiştir. Bu sistemde aktif maddeyi içerecek şekilde hazırlanan taşıyıcı çözelti, bir atomizer yardımı ile önceden sıcaklığı ayarlanmış kurutma haznesi içerisinde püskürtülmektedir. Sıcak hava ile karşılaşan besleme çözeltisi kuruyarak, buharlaşan su hava filtresinden geçtikten sonra ortama atılmaktadır. Bu sırada ayırma siklonuna gelen toz partikülleri terminal hız farkından faydalanılarak toplama kabında biriktirilmektedir. Püskürterek kurutma sisteminde ısı ve kütle transferi eşzamanlı olarak gerçekleşmekte olup ısı transferinin, kurutma prosesini yürüten temel kuvvet olduğu bildirilmektedir (Riveros vd 2009). İşlem sonunda merkezde aktif maddeyi içeren dışarıda ise taşıyıcı tarafından çevrelenmiş mikrokapsüller elde edilmektedir.

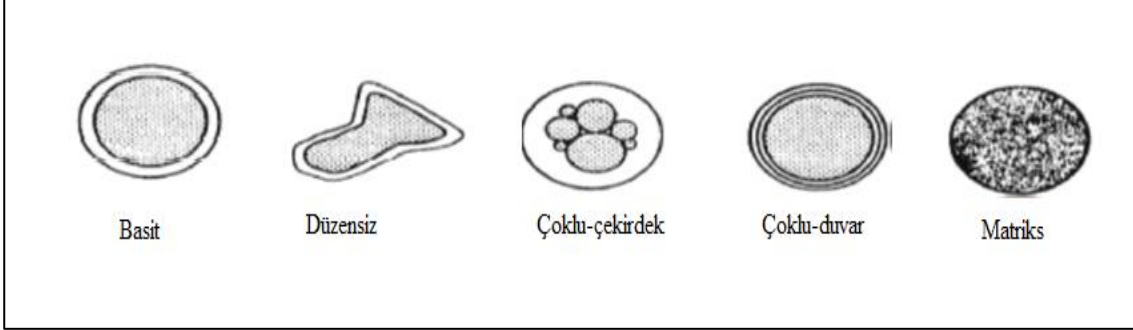


Şekil 2.3. Püskürterek kurutma tekniği

Bu amaçla kullanılan taşıyıcı materyaller genellikle suda çözünür formda karbonhidrat, protein veya bunların türevlerinden oluşmaktadır. Taşıyıcılara örnek olarak ise Arap zıkkı, jelatin, peynir altı suyu protein izolatı, maltodekstrin, β -siklodekstrin, yağsız süt tozu, soya proteini ve modifiye nişastalar verilebilmektedir (Rokka ve Rantamaki 2010, Heidebach vd 2012, İlha vd 2015). Tüm bunlara ilaveten mikrokapsülasyonda kullanılacak çözeltinin film oluşturma, emülsifikasyon ve düşük viskozite özelliklerine sahip olması gerektiği bildirilmektedir (Gharsallaoui vd 2007).

Püskürtülerek kurutucuya beslenecek çözeltinin viskozitesi son derece önemlidir. Çünkü çözelti viskozitesi enkapsüle mikroorganizmaların canlılığını doğrudan etkilemektedir. Düşük viskoziteli çözelti kullanımında besleme akış oranı artmakta, damlacık hacmi azalmakta ve sıcak hava ile damlacığın temas yüzeyi artmaktadır.

Böylece hızlı bir kuruma sağlanmakta ve bakterilerin sıcaklık ile temas süresi kısalmaktadır (Avila-Reyes vd 2014). Kullanılan taşıyıcı materyallerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre çok farklı şekil ve boyutta mikrokapsül elde edilebilmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Püskürterek kurutma ile üretilen farklı mikrokapsül şekilleri (Gibbs vd 1999)

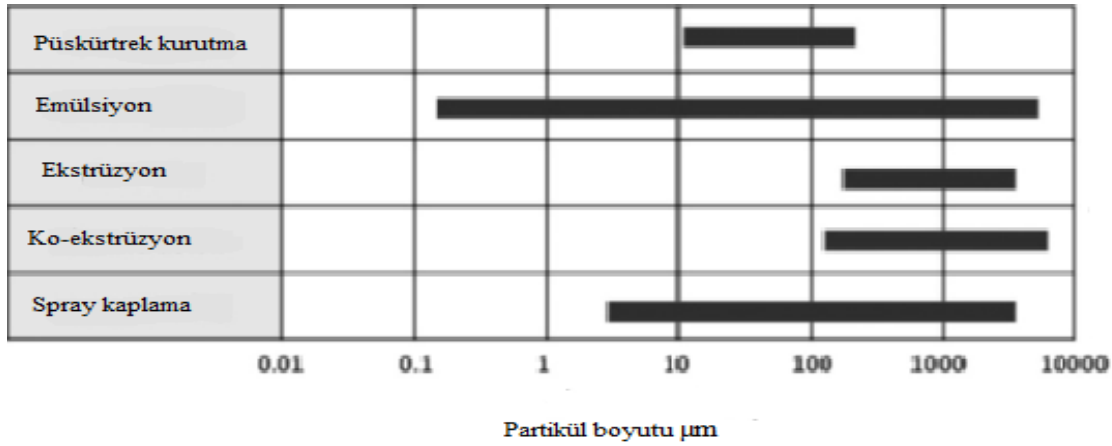
Püskürterek kurutma sırasında son ürünün özellikleri sistem parametreleri değiştirilerek kontrol altına alınabilmektedir. Bu parametrelerden en önemlileri kurutma giriş ve çıkış sıcaklığı olup probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonunda en çok dikkat edilmesi gereken parametredir. Çünkü püskürterek kurutma sırasında uygulanan yüksek sıcaklık ile dehidrasyon ve inaktivasyon meydana gelmekte olup bunun sonucunda probiyotik mikroorganizmaların hücre membranında veya proteinlerinde geri dönüşümsüz değişiklikler ortaya çıkabilmektedir (Avila-Reyes vd 2014, Bustamante vd 2015, Malmo vd 2013, Peighambardoust vd 2011). Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma sırasında artan kurutma sıcaklıklarının *L. lactis* üzerinde olumsuz etki yarattığı ve 200°C'nin üzerindeki kurutma sıcaklıklarında hiçbir canlılık tespit edilemediği rapor edilmiştir (Ghandi vd 2012). Kurutma sıcaklığına ilaveten probiyotik mikroorganizmaların işlem sonundaki canlılığı üzerine ayrıca kültürün tipi ve stres toleransı, taşıyıcının özellikleri ve kurutma süresi gibi faktörler de etkili olmaktadır (Chavez ve Ledebor 2007, Pinto vd 2015).

Probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonunda yüksek sıcaklığın yanında kullanılan taşıyıcı maddelerin suda kolayca çözünebilir formda olması da başka bir dezavantajı oluşturmaktadır. Bu yöntemle üretilen mikrokapsüller suda çözündüğünden aktif materyal kolayca serbest kalmakta ve depolama sırasında ya da sindirim sisteminden geçiş sırasında uzun süre koruyuculuk sağlamamaktadır (Krasaekoopt vd 2003). Püskürterek kurutma yöntemi ile probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonuna ait bazı çalışmalar Çizelge 2.4'te verilmiştir.

Çizelge 2.4. Püskürterek kurutma yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları

Probiyotik	Materyal	Kurutma sıcaklıkları (°C)	Partikül boyutu (µm)	Canlılık (%)	Kaynaklar
<i>L. plantarum</i>	FOS, PASPI	110/55	6-23	86	Rajam vd (2015)
<i>B. bifidum</i>	Yağsız süt, inülin, oligofruktoz	150/55	14-18		Fritzen-Freire vd (2012)
<i>L. casei</i>	Yağsız süt	170/80-85		75	Dimitrellou vd (2016)
<i>B. lactis</i>	PASP	150/50-60	11.23		De Castro-Cislaghi vd (2012)
<i>L. rhamnosus</i>	PASP, maltodekstrin, glikoza, inülin	160/65			Ying vd (2012)
<i>S. boulardii</i>	PASPI	90/45-50			Duongthingoc vd (2013)
<i>L. rhamnosus</i>	Dirençli nişasta, inülin	135, 145	5.75	80	Avila-Reyes vd (2014)
<i>L. acidophilus</i>	Maltodekstrin, keten tohumu müsilağı ve proteini	110, 125		82	Bustamante vd (2015)
<i>L. rhamnosus</i>	Yağsız süt, polidekstroz	170/85			Corcoran vd (2004)
<i>L. reuteri</i>	PAS	100/55-65	5.2		Jantzen vd (2013)
<i>L. plantarum</i>	Maltodekstrin, trehaloz, soya proteini, süt proteini, palatinoz	130/70		57	Lapsiri vd (2012)
<i>B. longum, B. infantis</i>	Jelatin, nişasta, Arap zımkı, yağsız süt	100/50			Lian vd (2003)
<i>L. acidophilus</i>	Maltodekstrin, PASP, aljinat, çitosan, HPMC	134/76	13.51		Yonekura vd (2014)
<i>L. acidophilus</i>	Arap zımkı, β-siklodekstrin	170/85-90	1-3		Zhao vd (2008)

Tüm bu dezavantajlara rağmen püskürterek kurutma yöntemi probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun en büyük nedeni ise elde edilen mikrokapsüllerin toz halinde ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha küçük partikül boyutuna sahip olması ve mikrokapsüllerin bu özellikleri ile farklı gıdalara kolayca katkılanabilmesidir (Yonekura vd 2014). Mikroenkapsülasyon yöntemleri ve elde edilen ürünlerin partikül boyutu karşılaştırmaları Şekil 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.5. Mikroenkapsülasyon yöntemleri sonucunda elde edilen ürünlerin partikül boyutları karşılaştırmaları (Krasaekoopt vd 2003)

Son ürünün partikül boyutunun yanında püskürtrek kurutma sisteminin hızlı ve düşük maliyetli olması da sistemin avantajları arasındadır. Ayrıca sistem yenilenebilir ve endüstriye de uygulanabilir niteliğe sahiptir (Burgain vd 2011). Püskürtrek kurutma yöntemi ile üretilen son ürün, düşük maliyetle taşınabilir ve düşük su aktivitesi sayesinde uzun depolama periyotlarında stabil özellikte olmaktadır (Gardiner vd 2000).

2.2.4. Püskürtrek dondurma (Spray chilling)

Püskürtrek dondurma, püskürtrek kurutma tekniğine oldukça benzer bir yöntem olup temel farklılık kullanılan taşıyıcı materyalden kaynaklanmaktadır. Püskürtrek kurutma yönteminde taşıyıcı materyal olarak genellikle suda çözünür polimerler kullanılırken, püskürtrek dondurmada ise hidrofobik karakterli materyaller kullanılmaktadır. Bu amaçla en çok kullanılan materyaller; fosfolipitler, hidrojenize yağlar, mumlar, yağ asitleri, polietilen glikol ve bunların karışımlarıdır (Chambi vd 2008, Gamboa vd 2011, Nedovic vd 2011, Okuro vd 2013b, Sillick ve Gregson 2012). Püskürtrek kurutma ve dondurma yöntemlerindeki bir başka farklılık ise ısı transfer yönüdür. Püskürtrek kurutma yönteminde ısı akışı, havadan partiküllere doğru iken, püskürtrek dondurma yönteminde ise materyalden havaya doğru gerçekleşmektedir (Okuro vd 2013b). Püskürtrek dondurma ve püskürtrek kurutma sistemleri arasındaki farklılıklar Çizelge 2.5'te verilmektedir.

Mikroenkapsülasyonda kullanılacak aktif materyal probiyotik mikroorganizmalar olduğundan inaktivasyona neden olmamak için erime sıcaklığı 32-48°C olan yağlar tercih edilmektedir. Ayrıca kullanılacak yağın erime sıcaklığının dar bir aralıkta olması hızlı katılaşmayı ve homojen kapsül oluşumunu sağlayacağından önemlidir (Okuro vd 2013a). Kullanılan hidrofobik materyallerin erime sıcaklıkları, bitkisel yağların hidrojenizasyon derecesi kontrol edilerek istenilen aralığa ayarlanabilmektedir.

Probiyotik mikroorganizmaların püskürtrek dondurma yöntemi ile mikroenkapsülasyonunda ilk olarak düşük erime sıcaklığına sahip hidrojenize yağ eritilmektedir. Ardından emülsifikatör eklenen erimiş yağ fazı donma sıcaklığının

üzerindeki bir sıcaklığa soğutulduktan sonra içerisine probiyotik mikroorganizma kültürü ilave edilmekte ve püskürterek dondurma sistemine beslenmektedir. Nozul içerisinde atomize edilen probiyotik kültür ve yağ karışımı, yağ fazının kendi erime noktasının daha altında bir sıcaklık ile temas ettiğinde katılarak mikrokapsül haline gelmektedir. Hava akımı ile taşınarak ayırma siklonuna gelen mikrokapsüller terminal hız farkı ile toplama kabında birikmektedir.

Çizelge 2.5. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma sistemi arasındaki farklılıklar (Okuro vd 2013a)

Özellik	Püskürterek kurutma	Püskürterek dondurma
Enerji akışı	Enerji akışı ortamdan damlacığa gerçekleşmektedir	Enerji akışı damlacıktan katılaştırma ortamına gerçekleşmektedir
Ekipman	Isıtmasız besleme tüpü	Katılaşmanın engellenmesi için ısıtmalı besleme tüpü
Kurutma hücresi	Sıcak hava	Soğuk hava ya da sıvı azot
Partikül boyutu	5-150 µm	20-200 µm
Çözünme mekanizması	Suda çözünme	Isıtma, lipaz ve safra tuzu
Partikül morfolojisi	Evaporasyondan dolayı porözlü düzensiz geometrik yüzey yapısı	Yoğun, küresel, pürüzsüz yüzey
Taşıyıcı	Suda çözünür polimerler	Vaks, yağ asitleri, suda çözünür polimerler ve çözünmez monomerler
Gıda bileşenleri	Vitamin, aroma, mikroorganizma kültürleri, karotenoidler, yağlar, enzimler ve asitlik düzenleyiciler	Demir sülfatlar, vitaminler, mineraller, probiyotikler, enzimler ve asitlik düzenleyiciler
Proses basamakları	Çözünmüş taşıyıcı materyal çözeltisi içerisinde aktif materyalin dispersiye edilmesi veya çözünmesi, atomizasyon ve kuruma	Erimiş lipit karışım içerisinde aktif materyalin dispersiye edilmesi veya çözünmesi, atomizasyon ve dondurma
Aktif materyal (%)	5-50	10-20

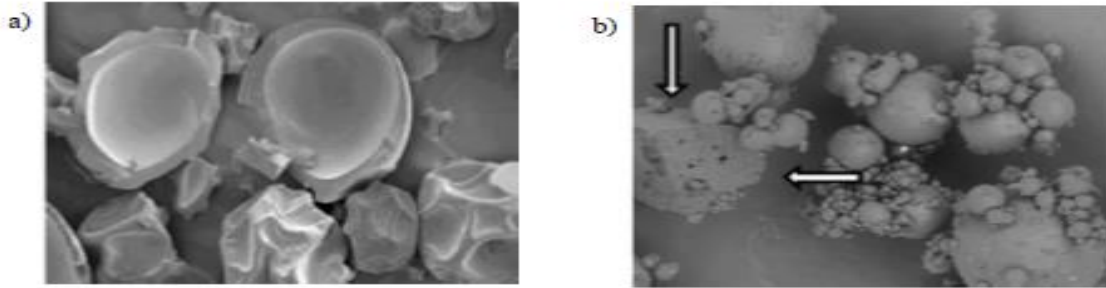
Günümüzde, püskürterek dondurma yönteminden çoğunlukla eczacılık alanında yararlanılmakta olup vitaminler, mineraller, peptitler, serbest amino asitler, enzimler ve aroma bileşikler gibi gıda bileşenleri mikroenkapsüle edilmektedir. Püskürterek dondurma yöntemi endüstriyel çapta uygulanabilme, düşük maliyet, etanol ve eter gibi organik çözücüler gerektirmeme ve düşük sıcaklıkta uygulama imkanları sağlaması gibi bir takım avantajlara sahip iken; düşük enkapsülasyon etkinliği ve aktif maddenin yüzeye sızabilmesi gibi bazı dezavantajlara da sahip olduğu bildirilmektedir (Chambi vd 2008, Okuro vd 2013b, Pedroso vd 2012).

Püskürterek dondurma yöntemine olan ilgi son zamanlarda hızla artmakta olup, uygulama sırasında yüksek sıcaklıklara gerek kalmaması ve kaplama ajanlarının hidrofobik özellikleri nedeniyle probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonunda kullanılabileceği bildirilmektedir. Kullanılan yağ bazlı kaplama ajanları kimyasal özellikleri nedeniyle üretim ve depolama sırasında probiyotiklerin stabilizasyonunu arttırmaktadır. Ayrıca püskürterek dondurma ile üretilen probiyotik mikrokapsüller suda çözünmedikleri için midenin asitlik koşullarından da etkilenmeden bağırsaklara ulaşabilmekte ve bu bölgede bulunan lipaz enzimi varlığıyla ortama salınarak aktivite kazanmaktadır. Yapılan bir çalışmada püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen *B. lactis* ve *L. acidophilus* mikrokapsüllerinin %90'ının mide ve bağırsak sisteminde canlı kaldığı tespit edilmiştir (Okuro vd 2013b, Pedroso vd 2012). Püskürterek dondurma yöntemi ile probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonuna ait çalışmalar Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Püskürterek dondurma yönteminin kullanıldığı mikroenkapsülasyon çalışmaları

Probiyotik	Materyal	Yağ erime sıcaklığı (°C)	Boyut (µm)	Canlılık (%)	Kaynaklar
<i>L. acidophilus</i>	Palm yağı	43.34	65	97	Okuro vd (2013)
<i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i>	Kakao yağı,	36.5	44.4	99	Pedroso vd (2013)
<i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i>	Palm yağı	47.5	24-40	100	Pedroso vd (2012)
<i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i>	Bitkisel yağ	51	60-85	97	Bampi vd (2016)

Püskürterek dondurma yöntemi ile daha çok matriks tipi mikrokapsüller üretilmektedir. Bir başka anlamda aktif materyal yalnızca çekirdekte değil kapsülün her tarafına yayılmış bir biçimde bulunmaktadır. Bu nedenle bu yöntemle üretilen mikrokapsüller yoğun ve ağır bir kapsül yapısına sahiptir. Püskürterek dondurma sırasında ortaya çıkan bu matriks görünümü soğuma hızı ile doğrudan ilişkili olup hızlı soğuyan lipit bazlı kapsüllerde stabil olmayan α formunun, yavaş soğuyan kapsüllerde ise β formunun olduğu rapor edilmiştir (Okuro vd 2013a). Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin SEM görüntüsü Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6. (a) Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüller, (b) püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüller (Okuro 2013a)

Püskürterek dondurma yöntemi yüksek koruyucu etkisi nedeniyle mikroenkapsülasyon çalışmalarında yeni bir teknik olarak son zamanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Farklı gıda bileşenlerinin bu yöntemle mikroenkapsüle edilmesi ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan bazılarında aktif materyal olarak likopen, zencefil oleoresini, gallik asit ve askorbik asit seçilmiş olup taşıyıcı materyal olarak ise fırıncılık yağı, palm yağı, hidrojenize soya yağı ve stearik asit kullanılmıştır (Alvim vd 2016, Consoli vd 2016, Oriani vd 2016, Pelissari vd 2016). Ancak probiyotik mikroorganizmaların püskürterek dondurma sisteminde mikroenkapsüle edilmesi ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaları içeren gıdaların sayısının her geçen gün arttığı göz önüne alındığında, probiyotiklerin hem üründe hem de sindirim sırasında canlılığını arttıracak yeni tekniklere ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Bu anlamda püskürterek dondurma sisteminde farklı hidrofobik materyallerin ve bunların karışımlarının probiyotik mikroorganizmalar üzerinde ki koruyucu etkilerinin belirlenmesi önemlidir. Ayrıca püskürterek dondurma tekniğinin kolayca optimize edilebildiği düşünülürse diğer mikroenkapsülasyon teknikleri ile kombine bir şekilde kullanımı da ortamın ekstrem şartlarına daha dayanıklı probiyotik mikrokapsüllerin üretimine imkan tanıyabilecektir.

2.3. Yeni Fonksiyonel Gıdaların Geliştirilmesi

Fonksiyonel gıda tüketiminin, başta ABD ve Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünyada hızla yaygınlaşmakta olduğu ve 2018 yılı itibarıyla toplam fonksiyonel gıda pazarının 38 milyar doları bulacağı tahmin edilmektedir (De Prisco ve Mauriello 2016). Türkiye’de ise fonksiyonel gıda pazarı gelişmekle birlikte bu tür ürünler çoğunlukla yabancı kaynaklı olarak büyük firmalar tarafından üretilerek pazarlanmaktadır. Gelişmişlik düzeyi yüksek olan toplumlarda fonksiyonel gıdalara olan talep de artmaktadır.

Günümüzde gıda satış merkezlerinde mevcut olan enkapsüle probiyotik gıdaların yaklaşık %49’unun süt, %28’inin meyve ve sebze, %13’ünün et ve %10’unun ise fırıncılık ürünleri kaynaklı olduğu bildirilmektedir (De Prisco ve Mauriello 2016). Ancak süt bazlı olmayan ve probiyotik mikroorganizma içeren yeni ürünlerin geliştirilmesi, son zamanlarda oldukça yoğun çalışmalar yapılan konular arasında yer almaktadır (Angelov vd 2006, Farnworth ve Champagne 2010, Reid vd 2007). Yeni probiyotik fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi, halk sağlığını iyileştirmesinin yanı sıra gıda seçiminde çeşitlilik de sağlamaktadır (Anekella ve Orsat 2013).

Gıda endüstrisinin temel amacı gıda formlarının sağlık iyileştirici ve besinsel özelliklerini arttırıcı yeni gıdaların tüketimini arttırmaktır (Anekella ve Orsat 2013). Bu anlamda ise probiyotik mikroorganizmaları içeren gıdalar önem kazanmaktadır. Probiyotik gıda sektörü, tüketicilerin istekleri doğrultusunda hızla gelişmekte olup probiyotik bakterileri taşıma kapasitesine sahip yeni gıdaların geliştirilmesi önemli bir konudur. Probiyotik mikroorganizmalarca zenginleştirilen gıdaların çoğunluğu serbest formda yapılmakta olup çok az bir kısmında mikroenkapsüle probiyotikler kullanılmaktadır (De Prisco ve Mauriello 2016). Halbuki bu tür ürünlerin geliştirilmesi sırasında karşılaşılan en büyük sorun son üründe istenilen düzeyde canlı mikroorganizma sağlanabilmesi ve bu sayının ürünün depolanması süresince korunabilmesidir (Pinto vd 2015). Bu nedenle probiyotik ürünlerin üretimi sırasında mikroorganizma canlılıklarının

korunmasına imkan sağlayan yeni mikroenkapsülasyon teknikleri geliştirilmelidir. Yeni ve yüksek sıcaklığa dayanıklı probiyotik mikrokapsüllerin üretilmesi tahıl bazlı fırın ürünleri gibi gıdaların da probiyotik mikroorganizmalarca zenginleştirilebilmesine imkan tanıyabilecektir (Burgain vd 2011, Mattila-Sandholm vd 2002, Mandal vd 2012).

Literatürde enkapsüle probiyotik mikroorganizmaların çeşitli gıdalara katkılanması ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu anlamda çoğunlukla ekstrüzyon ve emülsiyon tekniği ile mikroenkapsüle edilmiş farklı probiyotik mikroorganizma kültürleri mayonez, meyve suyu ve sosis gibi ısıl işlem görmemiş gıdalara ilave edilmiştir (Burgain vd 2011). Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma ilave edilerek üretilen ve süt bazlı olmayan gıdalar Çizelge 2.7’de verilmiştir. Yapılan bir çalışmada emülsiyon tekniği kullanılarak *L. casei* hücreleri mikroenkapsüle edilmiş ve elde edilen mikrokapsüller çikolatalı bar üretiminde kullanılmıştır. Depolama süresi sonunda (60 gün) ürünlerin hala kabul edilebilir seviyede (8 log kob/g) probiyotik hücre içerdiği tespit edilmiştir (Mandal vd 2012). Yapılan başka bir çalışmada ise ekstrüzyon yöntemi ile peynir altı suyu izolatu kullanılarak *L. rhamnosus* hücrelerini içeren mikrokapsüller üretilmiş ve bisküvi üretiminde kullanımı araştırılmıştır. Bisküvi hamurunda 10^7 kob/g seviyesinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısı, pişirme sırasında uygulanan yüksek sıcaklıktan etkilenecek üç haftalık depolama süresi sonunda 10^2 seviyesine kadar düşmüştür (Reid vd 2007). Başka bir çalışmada ise yine emülsiyon yöntemi kullanılarak *L. casei* hücreleri enkapsüle edilmiş ve dolgulu kek üretiminde dolgu içerisine ilave edilmiştir. Depolama sonunda (30 gün) probiyotik hücre seviyesinin ortalama olarak 4 logaritmik birim azaldığı ancak hala kabul edilebilir seviyede olduğu ve serbest *L. casei* hücrelerinin ise mikroenkapsüle edilmiş hücrelere göre yaklaşık iki kat daha fazla inaktivasyona uğradığı belirlenmiştir (Zanjani vd 2012). Probiyotik ekmek üretiminin amaçlandığı bir çalışmada ise *L. rhamnosus* hücreleri yenilebilir film içerisine ilave edilerek pişirme sonrasında ekmeklerin üzerine püskürtülmüş ve ardından sıcak hava yardımı ile kurutulmuştur. Kurutma sonrasında ekmeklerin *L. rhamnosus* içeriğinin 6 log kob/g seviyesinden yüksek olduğu ve en iyi korumanın peynir altı suyu protein konsantresi içeren filmlerde sağlandığı tespit edilmiştir (Soukoulis vd 2014). Aynı amaçla yapılan bir başka çalışmada ise *L. acidophilus* hücreleri farklı taşıyıcılar kullanılarak püskürtürerek kurutma sisteminde mikroenkapsüle edilmiş ve nişasta bazlı film üretimine ilave edilerek pişirilmiş ekmek üzerine kaplanmıştır. Kaplama sonunda ekmekte ortalama 3.75 log kob/g olan *L. acidophilus* sayısının 24 saat depolama sonunda 1.36 log kob/g değerine düştüğü belirlenmiştir (Altomirano-Fortoul vd 2012).

Çizelge 2.7. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma ilave edilerek üretilen süt bazlı olmayan gıdalar (Burgain vd 2011)

Ürün	Probiyotik	Yöntem	Kaplama
Mayonez	<i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i>	Emülsiyon	Aljinat
İçecek	<i>Bifidobacterium PL1</i>	Ekstrüzyon	Nişasta
Domates suyu	<i>L. acidophilus</i>	Ekstrüzyon	Karagenan
Yumuşak içecek	<i>B. lactis</i>	Ekstrüzyon	Gellan, Ksantan gam
Domates suyu	<i>L. acidophilus</i>	Ekstrüzyon	Aljinat
Sosis	<i>L. reuteri</i>	Ekstrüzyon	Aljinat
Sosis	<i>L. reuteri</i> , <i>B. longum</i>	Ekstrüzyon	Aljinat
Bisküvi	<i>L. rhamnosus</i>	Ekstrüzyon	PASP
Portakal suyu	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>B. lactis</i>	Emülsiyon	
Çikolata	<i>L. helveticus</i> , <i>B. longum</i>	Püskürterek kaplama	Yağ asitleri

2.3.1. Probiyotik taşıyıcı gıda olarak kek

Kek, üretim ve tüketim açısından ekmekten sonra en fazla pazar payına sahip olan fırın ürünü olup bu oranın her yıl yaklaşık %1.5 oranında arttığı bildirilmektedir. Kek; farklı oranlarda un, şeker, yumurta, yağ ve kabartma ajanlarının karıştırılması ve pişirilmesi ile elde edilen bir üründür. İçerdikleri şeker ve un miktarına göre düşük ve yüksek oranlı ve üretim proseslerine göre de hamur, köpük ve pasta keki olarak sınıflandırılabilir (Wilderjans vd 2013).

Ekmek, bisküvi, kek ve pasta gibi fırıncılık ürünleri günlük tüketimde önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle tüketici tarafından kabul edilebilir bir ürün ortaya çıkarılması ile fonksiyonelliğin kazandırılabilmesi en iyi kaynaktır. Günümüzde gıda bilimi ve teknolojisinin görevlerinden biri de lezzetli, fonksiyonel ve güvenli gıdalar üretmektir. Ancak fırıncılık ürünlerinin yüksek pişirme sıcaklığı nedeniyle, probiyotik olarak geliştirilmesi ile ilgi yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır (De Prisco ve Mauriello 2016). Mikroenkapsüle edilmiş probiyotik mikroorganizmalar ile üretilen tahıl bazlı gıdalar Çizelge 2.8’de verilmiştir.

Fırıncılık ürünlerine probiyotik mikroorganizmaların katılması temelde hamura karıştırılması, pişirilmiş ürünün yüzeyine uygulanması veya krema dolgusu içerisine ilave edilmesi ile uygulanmaktadır (De Prisco ve Mauriello 2016). Bu yöntemlerden pişirme sonrası uygulamalar istenilen düzeyde canlılık sağlarken pişirme sırasında uygulanan sıcaklıklar neredeyse bütün probiyotik canlılığın inaktivasyonuna neden olmaktadır. Bu anlamda kek, ekmek ve bisküvi gibi pişirilerek üretilen gıdalara probiyotik özellik kazandırılması ancak ısı işlem direnci yüksek mikrokapsüllerin üretimi ile mümkün olmaktadır (Mandal vd 2012).

Çizelge 2.8. Mikroenkapsüle edilmiş probiyotikler ile üretilen tahıl bazlı gıdalar

Ürün	Probiyotik	Yöntem	Kaynak
Ekmek	<i>L. rhamnosus</i>	-	Soukoulis vd (2014)
Ekmek	<i>L. acidophilus</i>	Emülsiyon	Seyedain-Ardabili (2016)
Ekmek	<i>L. acidophilus</i>	Püskürterek kurutma	Altamirano-Fortoul (2012)
Ekmek	<i>B. lactis</i>		Zhang vd (2014)
Kek	<i>L. casei</i>	Emülsiyon	Zanjani vd (2012)
Erişte	<i>L. plantarum</i>	Dondurarak kurutma	Rajam vd (2015)
Bisküvi	<i>L. rhamnosus</i>	Dondurarak kurutma, ekstrüzyon	Reid vd (2007)
Tahıl barı	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i>	Püskürterek dondurma	Bampi vd (2016)
Sufle	<i>L. reuteri</i>	Püskürterek kurutma	Malmo vd (2013)

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada probiyotik bakteriler olarak *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (Chr. Hansen, Danimarka) ve probiyotik maya olarak ise *Saccharomyces boulardii* (Reflor, Cedex, Fransa) kullanılmıştır. Püskürterek dondurma çalışmalarında kullanılan hidrojenize palm yağı (HYSOC-40) Cargill, MN, ABD firmasından temin edilmiştir. Probiyotik mikrokapsüllerin üretiminde kullanılan Arap zamkı, maltodekstrin, jelatin ve β -siklodekstrin hidrokolloidleri ise Sigma (Taufkirchen, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinin üretiminde kullanılan kek malzemeleri ise sektörde iyi bilinen firmalardan yüksek kalitede satın alınmıştır. Araştırmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olarak Sigma (Taufkirchen, Almanya) veya Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Probiyotik kültürlerin hazırlanması

S. boulardii kültürünün hazırlanması: 25 mg liyofilize *S. boulardii* kültürü aseptik şartlarda 250 mL hacmindeki erlen içerisine tartılarak üzerine 50 mL steril Yeast Malt Broth besiyeri ilave edilmiş ve 48 saat 37°C'de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda erlen içeriği 50 mL hacmindeki tüplere aktarılacak şekilde 7500 rpm dönüş hızında 10 dk. santrifüj edilmiş ve besiyeri iki kez steril ringer çözeltisi ile yıkanmıştır. Tüpte kalan hücre peleti üzerine 1 mL %20'lik steril gliserol çözeltisi ilave edilmiş ve -18°C'de depolanmıştır.

L. acidophilus kültürünün hazırlanması: 25 mg liyofilize *L. acidophilus* kültürü aseptik şartlarda tartılarak üzerine, ultrasonik su banyosunda degaz edilmiş 50 mL steril Man Rogosa Sharp Broth besiyeri (pH değeri 0.1 N NaOH ile 6.2 değerine ayarlandı) ilave edilmiş ve 18 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüp içeriği 7500 rpm dönüş hızında 10 dk santrifüj edilmiş ve besiyeri iki kez steril ringer çözeltisi ile yıkanmıştır. Tüpte kalan hücre peleti üzerine 1 mL %20'lik steril gliserol çözeltisi ilave edilmiş ve -18°C'de depolanmıştır.

B. bifidum kültürünün hazırlanması: 25 mg liyofilize *B. bifidum* kültürü aseptik şartlarda tartılarak üzerine, %0.05 L-sistein ile zenginleştirilmiş ve ultrasonik su banyosunda degaz edilmiş 50 mL steril Man Rogosa Sharp Broth besiyeri (pH değeri 0.1 N NaOH ile 6.5 değerine ayarlandı) ilave edilmiş ve 12 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüplerden 5 mL besiyeri alınarak üzerine tekrar 50 mL besiyeri ilave edilmiş ve tekrar aynı şartlarda ikinci bir inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüp içeriği 7500 rpm dönüş hızında 10 dk santrifüj edilmiş ve besiyeri iki kez steril ringer çözeltisi ile yıkanmıştır. Tüpte kalan hücre peleti üzerine 1 mL %20'lik steril gliserol çözeltisi ilave edilmiş ve -18 °C'de depolanmıştır.

Durağan fazda bulunan hücrelerin farklı stres koşullarına karşı daha dayanıklı olduğunun rapor edilmesi üzerine kullanılan probiyotik kültürlerin gelişim eğrileri ayrı

ayrı belirlenerek bu faza geldikleri zaman inkübasyona son verilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda bu fazdan alınarak püskürterek kurutma işlemi ile mikroenkapsüle edilen hücrelerin canlılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Meng vd 2008).

Probiyotik kültürler tekrar steril ringer çözeltisi ile yıkandıktan ve gliserol içeriği uzaklaştırıldıktan sonra püskürterek kurutma ve dondurma çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.2. Isıl stabilizasyonu yüksek mikrokapsül formülasyonunun belirlenmesi

Püskürterek kurutma yöntemi ile kek üretiminde kullanılacak olan ısıl stabilizasyonu yüksek mikrokapsül formülasyonunun belirlenmesi amacıyla Arap zımkı, maltodekstrin ve jelatin hidrokolloidleri kullanılarak β -siklodekstrin ilaveli ve ilavesiz olmak üzere 6 farklı formülasyon hazırlanmıştır. β -siklodekstrin içermeyen formülasyonlar 20 g Arap zımkı, maltodekstrin ve jelatinin ayrı ayrı tartıldıktan sonra 200 mL su içerisinde çözündürülmesi ile elde edilmiştir. β -siklodekstrin içeren formülasyonlar ise 18 g Arap zımkı, maltodekstrin ve jelatinin ayrı ayrı tartıldıktan sonra üzerine 2 g β -siklodekstrin ilave edilmesi ve 200 mL su içerisinde çözündürülmesi ile elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler 121°C’de 15 dk. otoklavda sterilize edildikten ve oda sıcaklığına tekrar soğutulduktan sonra kullanılmıştır.

Soğutulan çözeltilerin içerisine her bir probiyotik kültürden, çözelti kuru maddesinin %5’i oranında ilave edilmiş (1 mL) ve 8200 rpm dönüş hızında 1 dk. homojenize edilmiştir. Hazırlanan altı farklı çözelti 80, 100, 120 ve 140°C olmak üzere dört farklı giriş sıcaklığında püskürterek kurutma cihazında (Buchi-290, Flawil, İsviçre) mikroenkapsüle edilmiştir. Püskürterek kurutma sırasında kullanılan cihaz parametreleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Püskürterek kurutma sırasında kullanılan cihaz parametreleri

Giriş Sıcaklığı (°C)	Çıkış Sıcaklığı (°C)	Pompa Hızı (mL/dk)	Aspiratör Oranı (m ³ /h)	Püskürtme Hızı (bar)
80	40-45	7	38	0.3
100	41-48	13	38	0.3
120	51-59	15	38	0.3
140	58-63	17	38	0.3

3.2.3. Püskürterek kurutma yöntemi ile tek katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi

Püskürterek kurutma yöntemi ile probiyotik mikrokapsüllerin üretimi için kullanılan taşıyıcı formülasyonu ısıl stabilizasyon testi sonuçlarına göre Arap zımkı ve β -siklodekstrin karışımı olarak belirlenmiştir. Bu amaçla 18 g Arap zımkı ve 2 g β -siklodekstrin 200 mL su ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve ardından otoklavda sterilize edilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen çözelti içerisine, çözelti kuru maddesinin %5’i oranında *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* ilave edilmiş

(1 mL) ve karıştırıldıktan sonra püskürterek kurutma sisteminde mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Arap zımkı ve β -siklodekstrin kullanılarak püskürterek kurutma sisteminde üretilen tek katlı probiyotik mikrokapsüller GS olarak isimlendirilmiştirlerdir.

Püskürterek kurutma sırasında; giriş sıcaklığı 120°C, çıkış sıcaklığı 50°C, pompa hızı 16.5 mL/dk, aspiratör oranı 38 m³/h ve atomizasyon basıncı ise 0.3 bar olarak ayarlanmıştır.

3.2.4. Püskürterek dondurma yöntemi ile tek katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretilmesi

Püskürterek dondurma yöntemi ile tek katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretilmesi için hidrojenize palm yağı kullanılmıştır. Bu amaçla 20 g palm yağı ısıtıcı üzerinde eritilmiştir. Eriyen yağ fazı içerisine emülgatör olarak %2 oranında Tween 80 ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmıştır. Soğutulan erimiş palm yağı (45°C) içerisine %5 oranında *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* ilave edilmiş ve 8200 rpm dönüş hızında 1 dk. homojenize edildikten sonra püskürterek dondurma sisteminde mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Hidrojenize palm yağı kullanılarak püskürterek dondurma sisteminde üretilen tek katlı probiyotik mikrokapsüller P olarak isimlendirilmiştirlerdir.

Üretim sırasında nozul su banyosu sıcaklığı 38°C, örnek besleme su banyosu sıcaklığı 45°C, aspiratör oranı 20 m³/h ve atomizasyon basıncı ise 0.3 bar olarak ayarlanmıştır.

3.2.5. Püskürterek kurutma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi

Püskürterek kurutma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi için taşıyıcı formülasyon, tek katlı probiyotik mikrokapsüllerde gerçekleştirilene benzer şekilde hazırlanmıştır. Bu amaçla 18 g Arap zımkı, 2 g β -siklodekstrin ve %1 oranında lesitin üzerine 200 mL su ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve ardından otoklavda sterilize edilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen çözelti içerisine püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen ve probiyotik mikroorganizmaları içeren hidrofobik mikrokapsüllerden (P) çözelti kuru maddesinin %5'i olacak şekilde ilave edilmiştir. Emülsiyon 8200 rpm dönüş hızında 1 dk. homojenize edildikten sonra püskürterek kurutma sisteminde mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Püskürterek kurutma sırasında; giriş sıcaklığı 80°C, çıkış sıcaklığı 35°C, pompa yaklaşık 12 mL/dk, aspiratör oranı 20 m³/h ve atomizasyon basıncı 0.3 bar olarak ayarlanmıştır.

Böylece en dış katmanı püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen Arap zımkı/ β -siklodekstrin materyali ve çekirdek materyali ise probiyotik mikroorganizmaları içeren püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen palm çift katlı mikrokapsülü üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen ürün GS/P olarak adlandırılmıştır.

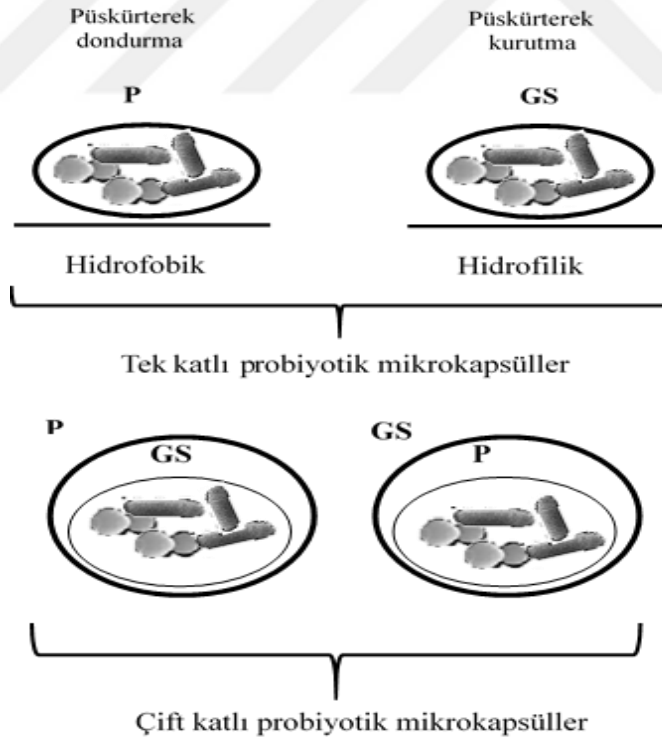
3.2.6. Püskürterek dondurma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi

Püskürterek dondurma yöntemi ile çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretilmesi için hidrojenize palm yağı kullanılmıştır. Bu amaçla 20 g palm yağı ısıtıcı üzerinde eritilmiştir. Eriyen yağ fazı içerisine %2 oranında Tween 80 ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmıştır. Soğutulan erimiş palm yağı (45°C) içerisine püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen ve probiyotik mikroorganizmaları içeren hidrofilik mikrokapsüllerden (GS) çözelti kuru maddesinin %5'i olacak şekilde ilave edilmiştir. Emülsiyon 8200 rpm dönüş hızında 1 dk. homojenize edildikten sonra püskürterek dondurma sisteminde mikrokapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Böylece en dış katmanı püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen hidrojenize palm yağı materyali ve çekirdek materyali ise probiyotik mikroorganizmaları içeren püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen Arap zamkı/siklodekstrin çift katlı mikrokapsülü üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen ürün P/GS olarak adlandırılmıştır.

Üretim sırasında nozul su banyosu sıcaklığı 38°C, örnek besleme su banyosu sıcaklığı 45°C, aspiratör oranı 20 m³/h ve atomizasyon basıncı 0.3 bar olarak ayarlanmıştır.

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin üretimi Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüllerin şematik gösterimi

3.2.7. Probiyotik kek üretimi

Sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı probiyotik kek olmak üzere dört farklı çeşit probiyotik kek üretimi yapılmıştır.

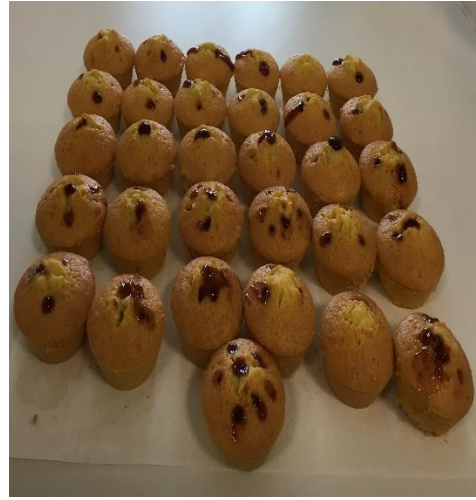
Kek miksinin hazırlanmasında standardize pound kek formülasyonu kullanılmıştır. Bu amaçla eşit miktarda; un (1.6 kg), tam yumurta (1.6 kg), yağ (1.6 kg) ve şeker (1.6 kg) tartılmış ve bir mikser yardımı ile karıştırılmıştır. Bu karışımının içerisine toplam kek miksi ağırlığının %0.6'sı oranında (38.4 g) kabartma tozu ve vanilya ilave edilmiş ve mikser ile tekrar karıştırılmıştır (Wilderjans vd 2013).

Sade kek üretimi: Geleneksel topkek kek kalıbına 24 g hamur miksi tartılmıştır. Tek ve çift katlı dört farklı probiyotik mikroorganizma içeren mikrokapsül örneklerinden (P, GS, P/GS ve GS/P) ayrı ayrı olarak 0.5 g tartılmış ve üzerine 0.5 g kek miksi ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Elde edilen bu mikrokapsül ve kek miksi karışımı kek kalıbına tartılan kek miksinin ortasına yerleştirilmiş ve tekrar üzerine 25 g kek miksi eklenmiştir. Böylece 50 g kek miksi tartılmış ve bu miksin %1'i oranında mikrokapsül ilave edilmiştir. Yapılan bir çalışmada fırıncılık ürünlerinde en soğuk noktanın merkez noktası olduğu bildirilmektedir (Zhang vd 2014). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmaları içeren mikrokapsüller kekin merkezine gelecek şekilde ilave edilmiştir. Kalıba tartılan kek hamurları 200°C 24 dk. süre ile pişirilmiştir. Sade kek üretimine ait görseller Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Sade kek üretimi

Çikolata kreması ve marmelat dolgulu kek üretimi: Kek kalıbına 50 g hamur miksi tartılmış ve 200°C 24 dk. süre ile pişirilmiştir. Pişirilen kekler kalıptan alınmış ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Tek ve çift katlı dört farklı probiyotik mikroorganizma içeren mikrokapsül örneklerinden (P, GS, P/GS ve GS/P) ayrı ayrı olarak 0.5 g tartılmış ve üzerine 4.5 g marmelat veya çikolata kreması dolgusu ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Elde edilen bu mikrokapsül/marmelat ve mikrokapsül/çikolata kreması dolgusu 60 mL'lik bir şırınga yardımı ile pişirilmiş kek örnekleri içerisine doldurulmuştur. Marmelat dolgulu kek üretimine ait görseller Şekil 3.3'de ve çikolata kreması dolgulu kek üretimine ait görseller ise Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Marmelat dolgulu kek üretimi



Şekil 3.4. Çikolata kreması dolgulu kek üretimi

Çikolata kaplamalı kek üretimi: Kek kalıbına 50 g hamur miksi tartılmış ve 200°C 24 dk. süre ile pişirilmiştir. Pişirilen kekler kalıptan alınmış ve soğumaya bırakılmıştır. Kuvertür çikolata benmari usulü eritildikten sonra 45°C'ye kadar soğutulmuştur. Tek ve çift katlı dört farklı probiyotik mikroorganizma içeren mikrokapsül örneklerinden (P, GS, P/GS ve GS/P) ayrı ayrı olarak 0.5 g tartılmış ve üzerine 4.5 g eritilmiş çikolata ilave edilerek karıştırıldıktan sonra kek üzerine yayılmıştır. Çikolata kaplamalı kek üretimine ait görseller Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Çikolata kaplamalı kek üretimi

Üretilen tüm kek örnekleri (sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı) 3 ay boyunca buzdolabında (4°C) depolanmış ve her 30 günde bir (0., 30., 60. ve 90. gün) ilgili mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyu analizleri yapılmıştır.

3.3. Mikrokapsül ve Kek Örneklerine Yapılan Analizler

3.3.1. Mikrobiyolojik analizler

Mikrokapsüllerin mikrobiyolojik analizleri kapsül açma işlemleri uygulandıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerden (GS ve GS/P) ve bu mikrokapsülleri içeren kek örneklerinden 1 g tartılarak üzerine 9 mL ringer çözeltisi ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde 250 rpm dönüş hızında 30 dk. karıştırılmıştır.

Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerden (P ve P/GS) ve bu mikrokapsülleri içeren kek örneklerinden 1 g tartılarak üzerine 9 mL %2'lik sodyum sitrat çözeltisi ilave edilmiş ve 50°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. Eriyen lipid matriks yine aynı sıcaklıkta bekletilmiş steril ılık 9 mL %2'lik sodyum sitrat çözeltisi ile uygun dilisyonlara seyreltilmiş ve ardından ilgili mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir (Pedroso vd 2012).

3.3.1.1. *S. boulardii* sayımı

Mikrokapsül ve kek örneklerinin *S. boulardii* sayımında “Yeast Extract Glucose Chlorophenicol” (YGC) agar besiyeri olarak kullanılmıştır. Besiyeri otoklavda sterilize edildikten (121°C, 15 dk) sonra aseptik şartlarda petri kaplarına dökülmüş ve soğutulmuştur. Katı hale gelen besiyeri üzerine seyreltilmiş uygun örnek dilüsyonlarından yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra sayım yapılmıştır (Arslan vd 2015a).

3.3.1.2. *L. acidophilus* sayımı

Mikrokapsül ve kek örneklerinin *L. acidophilus* sayımında maya gelişimini engellemek için 10 mg/L oranıyla sikloheksimid ilave edilmiş MRS-BC (bromkrezol yeşili ve klindamisin) agar kullanılmıştır. Konsantrasyonu %0.2 olan bromkrezol yeşili çözeltisi 121°C'de 15 dk sterilize edildikten sonra pH değeri 6.2'ye ayarlanmış ve aynı şartlarda sterilize edilmiş MRS agar üzerine %2 oranında ilave edilmiştir. Bu besiyeri karışımı üzerine, 0.22 µm filtreden geçirilmiş 50 mg/L konsantrasyonundaki klindamisin çözeltisinden 2 ml/L oranında ilave edilerek MRS-BC agar hazırlanmış ve dökme plak yöntemi ile petri kaplarına ekim yapılmıştır. Petri plakları 37°C'de 72 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldıktan sonra sayım yapılmıştır (Arslan vd 2015a).

3.3.1.3. *B. bifidum* sayımı

Mikrokapsül ve kek örneklerinin *B. bifidum* sayımında besiyeri olarak NNLP (neomisin sülfat 100 mg/L, nalidisik asit 50 mg/L, lityum klorit 3000 mg/L ve paramomisin sülfat 200 mg/L) ve maya gelişimini engellemek için 10 mg/L sikloheksimid ilave edilmiş MRS agar kullanılmıştır. Besiyeri hazırlandıktan sonra pH değeri 6.5'e ayarlanmıştır. Besiyeri otoklavda sterilize edilip (121°C, 15 dk) soğutulduktan sonra, soğutulmuş besiyeri üzerine 0.22 µm filtreden geçirilmiş NNLP karışımı besiyerinin %20'si oranında ilave edilmiş ve uygun dilisyonlardan dökme plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri plakları 37°C'de 72 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldıktan sonra sayım yapılmıştır (Arslan vd 2015a).

3.3.2. *In vitro* mide ve bağırsak direnci

Mikrokapsül örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların sindirim sistemi şartlarına direnci *in vitro* olarak belirlenmiştir. Mide ortamının simülasyonu amacıyla 9 g/L sodyum klorit ve 3 g/L pepsin içeren çözelti hazırlanmış ve pH değeri 0.1 M HCl ile 2'ye ayarlandıktan sonra steril 0.22 µm filtreden geçirilmiştir. 1 g mikrokapsül örneği tartılarak üzerine 9 mL mide çözeltisi ilave edilmiş ve 37°C de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında 0., 60., 90., 120. ve 180. dakikalarda örnek alınmış ve *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı yapılmıştır.

Bağırsak ortamının simülasyonu amacıyla 9 g/L sodyum klorit, 10 g/L pankreatin, 10 g/L tripsin ve 3 g/L safra tuzu içeren çözelti hazırlanmış ve pH değeri 0.1 M NaOH ile 8'e ayarlanmıştır. 1 g mikrokapsül örneği tartılarak üzerine 9 mL bağırsak çözeltisi ilave edilmiş ve 37°C de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında 0., 60., 90., 120. ve 180. dakikalarında örnek alınmış ve *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı yapılmıştır (Brinques ve Ayub 2011, Pedroso vd 2012).

3.3.3. Isıl stabilizasyon testi

Isıl stabilizasyon testi, üretilen mikroenkapsüllerin 50, 60, 70 ve 80°C de 30 dk. etüvde bekletilmesi ve bu süre sonunda *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı yapılması ile belirlenmiştir (Picot ve Lacroix 2003).

3.3.4. Nem miktarı

Mikrokapsül örneklerinin nem içeriği, 0.5 g örneğin 105°C’de nem tayin cihazında (Kern DBS, Balingen, Almanya) kurutulması ile % olarak belirlenmiştir (Arslan vd 2015b).

3.3.5. Su aktivitesi

Mikrokapsül örneklerinin su aktivitesi değeri (a_w) Aqualab 4TE (Decagon, Washington, ABD) kullanılarak 25°C sıcaklıkta ölçülmüştür (Arslan vd 2015b).

3.3.6. pH ve titrasyon asitliği

Kek örneklerinin depolama zamanlarındaki pH değeri, örneğin 20 kat saf su ile homojenize edilmesinden sonra pH metre (3410, WTW, Wellheim, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür. Titrasyon asitliği değeri ise pH ölçümü için homojenize edilen örneklerin fenol fitalein indikatörlüğünde, 0.1 N NaOH çözeltisi ile titrasyonu sonucunda belirlenmiştir. Toplam titrasyon asitliği değeri laktik asitin eşdeğerliği kullanılarak % olarak hesaplanmıştır.

3.3.7. Mikroenkapsülasyon verimi

Mikrokapsüllerin verimi püskürterek kurutma ve dondurma sonunda elde edilen ürün miktarının, işlem öncesi emülsiyondaki kuru maddeye oranlanması sonucu % olarak hesaplanmıştır.

3.3.8. Mikroenkapsülasyon etkinliği

Mikrokapsüllerin etkinliği, püskürterek kurutma ve dondurma sonunda elde edilen mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* canlılık sayısının işlem öncesi emülsiyonun içerdiği canlılık sayısına oranlanması sonucu % olarak hesaplanmıştır.

3.3.9. Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu

Mikroenkapsüllerin yığın yoğunluğu (g/cm^3), 1 g örneğin 10 mL’lik ölçülü silindire tartıldıktan ve saniyede bir kez olmak üzere 30 defa düz bir zemin üzerine ölçü silindirinin tabanının hafifçe vurulduktan sonra ölçülen hacmin örnek ağırlığına oranlanması ile elde edilmiştir (Beristain vd 2001).

3.3.10. Parçacık boyutu

Mikroenkapsüllerin parçacık boyutu analizi lazer kırınım prensibi ile çalışan parçacık boyutu analiz cihazının sıvı modülü (Malvern, Mastersizer 2000SR) kullanılarak yapılmıştır. Çözücü madde olarak 2-propanol kullanılmış ve refraktif indeks değeri 1.52’ye ayarlanmıştır. Ölçüm sonucu parçacık boyutu, hacim ağırlıklı ortalama ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri (μm) olarak ayrı ayrı hesaplanmıştır (Arslan vd 2015b).

3.3.11. Termal özellikler

Üretilen mikroenkapsüllerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetri cihazı (DSC 6000, Perkin Elmer, Massachusetts, ABD) ile belirlenmiştir. Bu amaçla tartılan 15 mg örnek alüminyum kapsül içerisine yerleştirilmiş ve 10°C/dk değişim ile (-50) – (+100)°C sıcaklık aralığında tarama yapılmıştır (Okuro vd 2013b).

3.3.12. Morfolojik özellikler

Mikropartiküllerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM)(Leo-1430, Zeiss, Oberkochen, Almanya) ve dijital kamera sistemine (DS-FI2, Nikon, Tokyo, Japonya) sahip stereo mikroskop sistemi (SMZ 745T, Nikon, Tokyo, Japonya) ile belirlenmiştir.

3.3.13. Tekstür analizi

Kek örneklerinin depolama zamanlarındaki tekstür profil analizi, tekstür ölçüm (TA.TX plus, İngiltere) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Alt ve üst çapları, yüksekliği ve spesifik hacmi sırasıyla 52.47±0.74 mm, 64.95±0.33 mm, 49.72±0.67 mm ve 1.75±0.07 mL/g olarak ölçülen kek örnekleri, depolama ortamından çıkarıldıktan sonra bekletilmeden bütün halde analiz edilmiştir. Ölçüm sırasında silindirik prop (SMSP/100) ve 5 kg'lık yük hücresi kullanılmıştır. Test hızı 3 mm/s, gerilme oranı %30 ve gerilme kuvveti 3 g olarak ayarlanmıştır.

3.3.14. Duyusal analiz

Kek örneklerinin depolama zamanlarındaki duyusal özellikleri (renk, görünüş, gözenek yapısı, tekstür, tat, koku, genel beğeni ve satın alma isteği) 8 kişilik eğitimli panelist tarafında yürütülen panel ile analiz edilmiştir.

3.3.15. İstatistiksel analizler

Deneme, iki tekerrürlü analizler ise paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi ve önemli bulunan parametrelere Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar SAS istatistik programı ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde düzenlenmiştir. Ayrıca mikrokapsüllere yapılan analizlerinde, kontrol olarak kullanılan serbest hücrelere istatistik uygulanmamıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Isıl Stabilizasyonu Yüksek Püskürterek Kurutma Formülasyonunun Belirlenmesi

4.1.1. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin *S. bouldardii* içeriği üzerine etkisi

Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonrasında *S. bouldardii* sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.1’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre ısı stabilizasyon testi sonucunda mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı üzerine; farklı taşıyıcı formülasyonunun, kurutma sıcaklıklarının ve test inkübasyon sıcaklıklarının önemli ($p < 0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre ısı etkiye karşı en yüksek korumayı 4.08 ve 3.83 log kob/g ile Arap zımkı içeren formülasyonların ve 3.86 log kob/g ile 120°C’deki kurutma sıcaklığının sağlandığı tespit edilmiştir. 50°C’de 30 dk bekletilen mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı 4.01 log kob/g olarak tespit edilirken bu sayının 80°C’de bekletme ile azaldığı ve 3.22 log kob/g seviyesine düştüğü belirlenmiştir.

Isıl stabilizasyon testi sonuçlarına göre, Arap zımkı içeren formülasyonların *S. bouldardii* hücrelerini koruyucu etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Maltodekstrin ve jelatin yalnızca polisakkarit ve protein yapılarından oluşurken Arap zımkı üç temel yapıdan meydana gelmektedir. Arap zımkının yapısında en fazla bulunan grup β , 1-3 bağlarıyla bağlı galaktoz iskelet üzerinde yerleşmiş arabinoz ve ramnoz şekerleri olup bu zincir glukouronik asit monomerleri ile sonlandırılmaktadır. Diğer ikinci temel grup ise arabinogalaktan-protein kompleksi olup, bu yapının toplam polimerin %10’unu oluşturduğu bildirilmiştir. En az bulunan grup ise (%1) yüksek protein içeriğine sahip olan glikoprotein yapıdır (Dror vd 2006). Arap zımkı içeren formülasyonların *S. bouldardii* hücrelerinin sıcaklık toleransını arttırmasına neden olan faktörlerden birisinin, bu glikoprotein yapı olduğu düşünülmektedir. Tüm bunlara ilaveten ise püskürterek kurutma sisteminde kullanılan tüm taşıyıcıların içerisinde Arap zımkınının yüksek emülsifikasyon özelliklerinden dolayı kullanımının yaygın olduğu da bildirilmektedir (Gharsallaoui vd 2007). Artan kurutma sıcaklıklarının (120°C’ye kadar), *S. bouldardii* hücrelerine sıcaklığa karşı bir tolerans kazandırdığı ancak 140°C’de ise negatif olarak etkilediği görülmüştür. Test inkübasyon sıcaklıklarında ise beklenildiği gibi artan sıcaklıklarda *S. bouldardii* sayısının azaldığı belirlenmiştir.

Mikroenkapsüle edilmemiş serbest *S. bouldardii* hücreleri ile yapılan ısı stabilizasyon testi sonucunda ise 50°C’de 30 dk bekletme sonucunda başlangıç sayısının 6.11 log kob/g seviyesine düştüğü ve 60, 70 ve 80°C’de yürütülen test sıcaklıklarında ise hiçbir canlılık göstermediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu, kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında *S. bouldarii* sayılarındaki (log kob/g) değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

	Kurutma Sıcaklığı (°C)	İnkübasyon Sıcaklığı (°C)			
		50	60	70	80
Maltodekstrin	80	3.00	2.49	3.59	2.65
		3.00	2.94	2.66	2.65
	100	3.95	3.86	3.33	3.32
		3.48	3.76	3.29	3.32
	120	3.84	3.60	3.87	3.61
		4.00	3.95	3.92	3.61
	140	4.00	4.01	3.38	3.25
		4.14	3.94	3.23	3.25
Arap zımkı	80	4.67	4.55	2.36	2.05
		4.51	4.00	2.23	2.05
	100	4.81	4.45	4.43	3.22
		4.68	4.20	4.45	3.22
	120	4.70	4.56	3.68	3.61
		4.65	4.54	4.09	3.61
	140	4.20	3.78	3.61	3.25
		4.16	4.08	3.69	2.52
Jelatin	80	3.18	3.00	4.45	2.05
		3.00	2.70	4.48	2.05
	100	3.18	3.10	2.71	3.05
		5.65	2.88	2.96	2.35
	120	3.74	3.30	2.75	2.52
		3.95	3.46	3.35	4.25
	140	3.60	3.69	3.17	2.35
		4.02	3.29	2.53	2.52
Maltodekstrin β -Siklodekstrin	80	2.60	2.70	3.79	4.39
		3.00	2.57	3.54	4.41
	100	3.78	3.43	2.23	4.43
		3.60	2.70	2.36	4.52
	120	4.08	3.96	3.15	3.41
		4.20	4.27	3.49	3.41
	140	3.54	3.83	3.17	3.22
		4.22	4.03	3.40	3.22
Arap zımkı β -Siklodekstrin	80	4.83	4.54	2.90	3.82
		4.96	4.72	2.75	2.52
	100	4.63	4.66	3.71	2.74
		4.71	4.81	4.27	2.74
	120	4.70	4.56	4.49	3.52
		5.05	4.71	4.29	3.52
	140	4.57	4.23	3.59	3.41
		4.65	4.20	4.21	3.65
Jelatin β -Siklodekstrin	80	3.18	3.30	2.90	4.49
		3.18	3.00	2.75	4.48
	100	3.48	3.30	3.33	2.52
		3.60	3.60	3.26	3.05
	120	3.88	3.78	3.78	3.00
		4.13	3.70	3.88	3.19
	140	3.88	3.30	3.60	3.19
		3.93	3.30	3.69	3.28

Çizelge 4.2. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *S. boulardii* sayılarındaki (log kob/g) değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F Değeri
Taşıyıcı Materyal	5	3.00	9.10**
Kurutma Sıcaklığı	3	2.29	6.97**
İnkübasyon Sıcaklığı	3	5.77	17.52**
Hata	180		

** p<0.01

Çizelge 4.3. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *S. boulardii* sayılarındaki değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Taşıyıcı Materyal	n	<i>S. boulardii</i>
Maltodekstrin	32	3.46 ^b ± 0.08
Arap zımkı	32	3.83 ^a ± 0.15
Jelatin	32	3.23 ^b ± 0.14
Maltodekstrin/β-Siklodekstrin	32	3.52 ^b ± 0.11
Arap zımkı/β-Siklodekstrin	32	4.08 ^a ± 0.13
Jelatin/β-Siklodekstrin	32	3.47 ^b ± 0.08
Kurutma Sıcaklığı (°C)		
80	48	3.32 ^c ± 0.14
100	48	3.60 ^b ± 0.09
120	48	3.86 ^a ± 0.18
140	48	3.60 ^b ± 0.73
İnkübasyon Sıcaklığı (°C)		
50	48	4.01 ^a ± 0.13
60	48	3.74 ^b ± 0.11
70	48	3.43 ^c ± 0.08
80	48	3.22 ^c ± 0.08

4.1.2. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin *L. acidophilus* içeriği üzerine etkisi

Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve farklı kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin ısıl stabilizasyon testi sonrasında *L. acidophilus* sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.4'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5'te ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre ısıl stabilizasyon testi sonucunda mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı üzerine; farklı taşıyıcı formülasyonunun ve test inkübasyon sıcaklıklarının önemli (p<0.01) bir etkisinin olduğu ancak kurutma sıcaklığının ise önemli (p>0.05) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre ısıl etkiye karşı en yüksek korumayı 4.96 log kob/g değeri ile maltodekstrin/β-siklodekstrin formülasyonunun

sağladığı tespit edilmiştir. İstatistiki olarak önemli bulunmayan kurutma sıcaklıklarının artan değeri maya hücrelerinin aksine *L. acidophilus* hücrelerinin sıcaklık toleransını geliştirmede ve ortalama 4.61 log kob/g seviyesinde kaldığı tespit edilmiştir. Test inkübasyon sıcaklıklarına göre ise artan sıcaklıklarda *L. acidophilus* sayısının azaldığı ve 5.25 log kob/g seviyesinden 3.93 log kob/g seviyesine düştüğü görülmüştür. Püskürterek kurutma sırasında uygulanan yüksek sıcaklıkların probiyotik hücreler üzerinde geri dönüşümsüz zararlar verdiği bilinmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların kendi gelişim sıcaklıklarının yaklaşık 10°C üzerindeki sıcaklığın hücreler üzerinde şok etkisi yarattığı bildirilmektedir (Anekella ve Orsat 2013). Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada da püskürtülerek kurtulan LAB hücrelerinin en yüksek canlılık değeri olan %78'in en düşük giriş sıcaklığı olan 110°C'de tespit edildiği rapor edilmiştir (Bustamante vd 2015).

En yüksek inkübasyon sıcaklık değerinde (80°C) halen *L. acidophilus* hücre canlılığının tespit edilmesi tüm mikrokapsüllerin sıcaklığa karşı bir tolerans sağladığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma sisteminde mikrokapsüle edilen *L. reuteri* hücrelerinde 80°C'de 5 dk inkübasyon sonunda canlılık tespit edilememiştir (Malmo vd 2013). Başka bir çalışmada ise mikrokapsüle *L. paracasei* hücre sayısının 65°C'de 30 dk bekletme sonunda 8.69 log kob/g değerinden 5.91 log kob/g değerine düştüğü tespit edilmiştir (Ilha vd 2015).

Mikrokapsüle edilmemiş serbest *L. acidophilus* hücreleri ile yapılan ısı stabilizasyon testi sonucunda ise 50°C'de bile çok ciddi bir azalışa uğrayarak 1.60 log kob/g seviyesine düştüğü ve artan inkübasyon sıcaklıklarında hiçbir canlılık göstermediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *L. acidophilus* sayılarındaki (log kob/g) değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

	Kurutma Sıcaklığı (°C)	İnkübasyon Sıcaklığı (°C)			
		50	60	70	80
Maltodekstrin	80	5.64	4.94	4.59	4.24
		5.58	5.24	4.49	4.17
	100	5.51	4.95	4.73	4.08
		5.56	5.09	4.49	4.02
	120	5.45	5.16	4.44	4.08
		5.49	4.76	4.29	4.09
Arap zımkı	80	5.13	4.97	4.55	4.42
		5.16	4.83	4.58	4.29
	100	4.18	4.11	4.17	3.26
		4.30	4.36	4.29	3.25
	120	4.74	3.88	3.83	3.31
		4.81	4.11	4.01	3.07
Jelatin	80	4.70	4.51	4.29	3.65
		4.74	4.72	4.31	3.58
	100	4.30	4.71	4.10	3.98
		4.00	4.51	4.01	3.88
	120	4.85	4.14	4.45	4.38
		4.78	4.16	4.48	4.45
Maltodekstrin β -Siklodekstrin	80	5.52	5.05	4.48	4.54
		5.65	5.13	4.98	4.58
	100	5.11	4.92	4.18	4.31
		4.00	5.05	4.17	4.25
	120	5.51	4.85	4.53	4.70
		5.56	4.57	4.76	4.64
Arap zımkı β -Siklodekstrin	80	5.95	5.82	4.79	4.39
		5.96	5.92	4.54	4.41
	100	4.78	5.15	4.82	4.43
		6.86	5.75	6.62	4.52
	120	5.58	5.29	4.98	3.28
		5.28	5.21	4.62	3.46
Jelatin β -Siklodekstrin	80	4.90	5.37	4.65	3.55
		4.60	5.18	4.50	3.58
	100	5.27	5.16	3.06	3.82
		5.11	5.31	3.53	2.52
	120	5.89	5.70	3.83	2.65
		5.82	5.70	4.01	2.52
Jelatin β -Siklodekstrin	80	6.15	5.36	4.42	3.67
		6.13	5.42	4.20	3.74
	100	5.41	4.93	4.23	3.16
		5.56	5.03	4.61	3.25
	120	5.26	4.70	4.62	4.49
		5.36	4.48	4.42	4.48
Jelatin β -Siklodekstrin	80	5.04	4.59	4.81	4.47
		5.16	4.64	4.50	4.47
	100	5.50	4.79	4.49	4.15
		5.53	4.94	4.40	4.24
	120	5.45	4.70	4.94	4.00
		5.42	4.81	4.84	4.23

Çizelge 4.5. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *L. acidophilus* sayılarındaki değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F Değeri
Taşıyıcı Materyal	5	2.73	12.80**
Kurutma Sıcaklığı	3	0.19	0.88
İnkübasyon Sıcaklığı	3	16.01	75.17**
Hata	180		

** p<0.01

Çizelge 4.6. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *L. acidophilus* sayılarındaki (log kob/g) değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Taşıyıcı Materyal	n	<i>L. acidophilus</i>
Maltodekstrin	32	4.78 ^{ba} ± 0.09
Arap zımkı	32	4.11 ^c ± 0.08
Jelatin	32	4.71 ^b ± 0.08
Maltodekstrin/β-Siklodekstrin	32	4.96 ^a ± 0.15
Arap zımkı/β-Siklodekstrin	32	4.54 ^b ± 0.20
Jelatin/β-Siklodekstrin	32	4.75 ^{ba} ± 0.07
İnkübasyon Sıcaklığı (°C)		
50	48	5.25 ^a ± 0.08
60	48	4.93 ^b ± 0.07
70	48	4.45 ^c ± 0.07
80	48	3.93 ^d ± 0.08

4.1.3. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin *B. bifidum* içeriğı üzerine etkisi

Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve farklı kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin ısıl stabilizasyon testi sonrasında *B. bifidum* sayılarındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.7’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.8’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre, ısıl stabilizasyon testi sonucunda mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı üzerine farklı taşıyıcı formülasyonunun, kurutma sıcaklıklarının ve test inkübasyon sıcaklıklarının önemli (p<0.01; p<0.05) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısı stabilizasyon testi sonrasında *B. bifidum* sayılarındaki (log kob/g)değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

	Kurutma Sıcaklığı (°C)	İnkübasyon Sıcaklığı (°C)			
		50	60	70	80
Maltodekstrin	80	5.85	5.92	5.97	2.89
		6.08	5.93	5.98	3.12
	100	6.23	6.12	6.06	3.16
		6.20	6.10	5.90	2.52
	120	6.20	6.07	5.84	3.22
		6.15	6.07	5.89	2.95
	140	6.00	5.84	5.53	3.56
		5.78	5.88	5.59	3.39
Arap zımkı	80	5.30	5.49	4.96	3.05
		5.30	5.48	4.83	3.35
	100	6.71	5.73	4.96	2.30
		6.39	5.81	4.83	2.60
	120	6.04	6.23	5.36	2.30
		5.80	6.30	5.45	2.85
	140	6.68	6.07	6.08	2.00
		6.16	6.14	6.02	2.00
Jelatin	80	6.28	5.80	5.60	2.82
		6.32	5.80	5.60	2.05
	100	6.04	5.95	5.61	2.74
		6.00	5.94	5.49	3.16
	120	5.30	5.53	5.10	2.82
		5.30	5.40	4.90	2.05
	140	6.88	4.94	4.36	2.82
		6.81	4.88	4.36	2.65
Maltodekstrin β-Siklodekstrin	80	6.62	6.21	6.58	3.09
		6.62	6.43	6.70	3.35
	100	6.67	6.40	6.64	3.30
		6.86	6.48	6.62	3.49
	120	6.77	6.39	6.44	3.19
		6.65	6.36	6.46	3.41
	140	6.52	6.26	6.22	3.56
		6.56	6.29	6.34	3.64
Arap zımkı β-Siklodekstrin	80	6.27	6.53	5.75	3.65
		6.53	6.40	5.65	3.65
	100	6.89	6.79	6.31	2.00
		6.82	6.91	6.36	2.00
	120	7.05	6.85	6.77	5.33
		7.13	6.90	6.74	5.27
	140	7.00	6.74	6.34	3.22
		6.89	6.63	6.42	3.16
Jelatin β-Siklodekstrin	80	6.53	6.28	5.56	2.35
		6.57	6.38	5.53	2.05
	100	6.66	6.00	6.23	2.35
		6.54	6.28	6.20	2.35
	120	6.79	6.72	6.43	3.52
		6.79	6.66	6.37	3.65
	140	6.11	6.36	6.21	5.69
		6.70	6.48	6.28	4.50

Çizelge 4.8. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *B. bifidum* sayılarındaki değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	KO	F Değeri
Taşıyıcı Materyal	5	5.46	23.02**
Kurutma Sıcaklığı	3	0.64	2.72*
İnkübasyon Sıcaklığı	3	113.43	478.56**
Hata	180		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.9. Farklı taşıyıcı madde formülasyonu ve kurutma sıcaklıklarında üretilen mikrokapsüllerin, farklı sıcaklıklarda yürütülen ısıl stabilizasyon testi sonrasında *B. bifidum* sayılarındaki (log kob/g) değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Taşıyıcı Materyal	n	<i>B. bifidum</i>
Maltodekstrin	32	5.25 ^b ± 0.23
Arap zımkı	32	4.95 ^c ± 0.27
Jelatin	32	4.85 ^c ± 0.25
Maltodekstrin/β-Siklodekstrin	32	5.72 ^a ± 0.24
Arap zımkı/β-Siklodekstrin	32	5.84 ^a ± 0.27
Jelatin/β-Siklodekstrin	32	5.60 ^a ± 0.27
Kurutma Sıcaklığı (°C)		
80	48	5.23 ^b ± 0.21
100	48	5.33 ^{ba} ± 0.24
120	48	5.49 ^a ± 0.21
140	48	5.43 ^{ba} ± 0.07
İnkübasyon Sıcaklığı (°C)		
50	48	6.38 ^a ± 0.07
60	48	6.15 ^b ± 0.07
70	48	5.86 ^c ± 0.09
80	48	3.08 ^d ± 0.12

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre ısıl etkiye karşı β-siklodekstrin içeren formülasyonların genellikle daha iyi koruma sağladığı görülmüştür. Bununla birlikte sayısal olarak ise en yüksek *B. bifidum* 5.84 log kob/g ile Arap zımkı/β-siklodekstrin formülasyonunda tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma sonunda en yüksek *B. longum* canlılığını Arap zımkı formülasyonun sağladığı ve taşıyıcı oranının arttıkça canlılık oranının da arttığı tespit edilmiştir (Lian vd 2002). Ayrıca β-siklodekstrin ve Arap zımkının film oluşturma yeteneğinden dolayı gıda ve eczacılık sanayinde mikrokapsül formülasyonlarında kullanıldığı bildirilmektedir (Zhao vd 2008).

Kurutma sıcaklıklarına bakıldığında ise *S. boulardii* sonuçları ile benzer bir şekilde 120°C'ye kadar artan sıcaklıklarda bir sıcaklık toleransı olduğu gözlenmektedir. Test inkübasyon sıcaklıklarında ise artan sıcaklıklarda *B. bifidum* sayısının azaldığı ve 6.38 log kob/g seviyesinden 3.08 log kob/g seviyesine düştüğü belirlenmiştir.

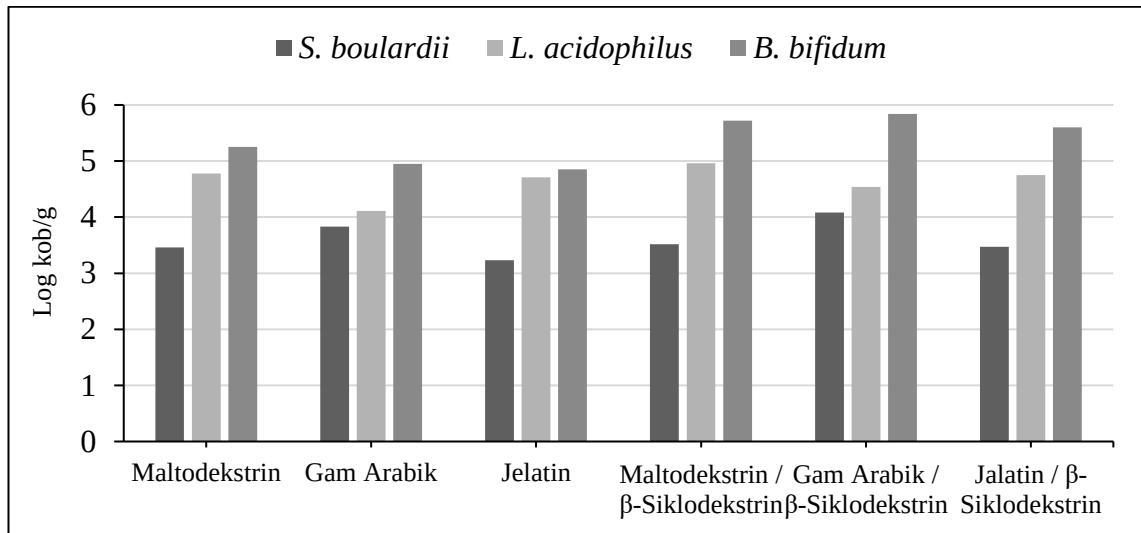
Mikroenkapsüle edilmemiş serbest *B. bifidum* hücrelerinin ısı stabilizasyon testi sonucunda ise 50°C’de 30 dk bekletme sonucunda başlangıç seviyesinin 5.79 log kob/g seviyesine düştüğü ancak 60, 70 ve 80°C’de yürütülen test sıcaklıklarında ise hiçbir canlılık göstermediği tespit edilmiştir.

4.1.4. Isıl stabilizasyon testi sonucunda, farklı taşıyıcı madde formülasyonunun ve kurutma sıcaklıklarının mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma içeriği üzerine etkisi

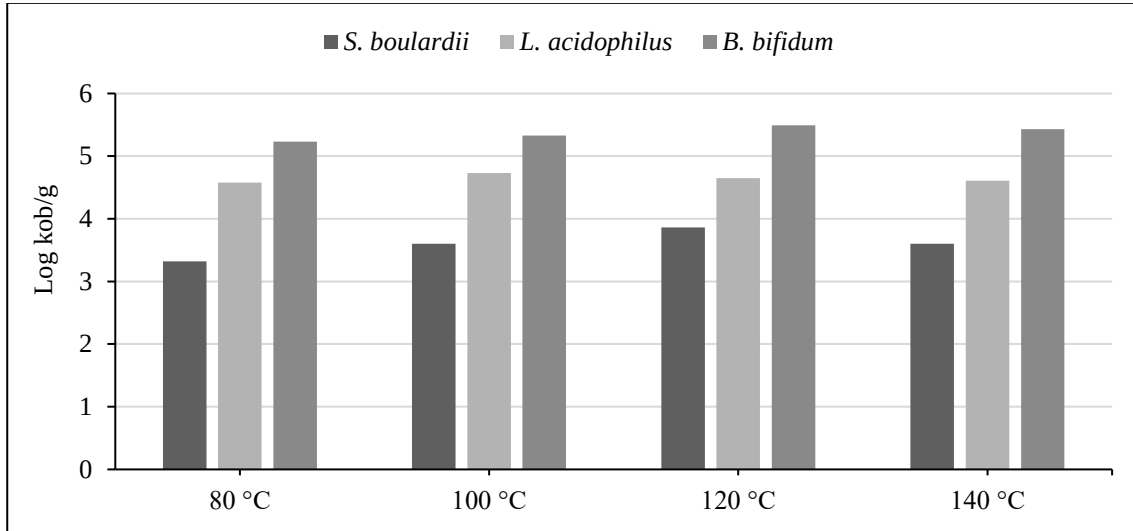
Isıl stabilizasyon testi sonucunda taşıyıcı materyal çeşidinin ve kurutma sıcaklıklarının *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı üzerine etkileri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.

Arap zıkkı/β-siklodekstrin formülasyonu ve 120°C püskürterek kurutma sıcaklığı diğer formülasyonlara ve kurutma sıcaklıklarına göre *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücrelerinin sıcaklığı karşı daha çok korunmasını sağlamıştır. *L. acidophilus* hücrelerinin sıcaklık toleransında ise kurutma sıcaklığı ile bir fark oluşmamakla birlikte maltodekstrin/β-siklodekstrin formülasyonunun daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Probiyotik mikrokapsüllerin gıda ile tüketildikten sonrada sindirim sisteminden etkilenmeden kalın bağırsağa geçerek faydalı etkilerini gösterebilmeleri gerekmektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada *S. boulardii*, farklı taşıyıcı maddelerle mikroenkapsüle edilmiş ve düşük pH ortamında inkübe edilerek canlılığı araştırılmıştır. Bu çalışmada yüksek asitlik ortamında Arap zıkkı formülasyonunun maltodekstrine göre daha koruyucu özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Arslan vd 2015b). Bu nedenle üretilecek mikrokapsüllerin formülasyonlarında Arap zıkkı/β-siklodekstrin karışımının ve 120°C kurutma sıcaklığının kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.1. Taşıyıcı materyal çeşidinin probiyotik mikroorganizma sayıları üzerine etkisi



Şekil 4.2. Farklı püskürterek kurutma giriş sıcaklıklarının probiyotik mikroorganizmalar üzerine etkisi

Püskürterek kurutma çalışmalarında probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonunda en yaygın kullanılan taşıyıcılar biyopolimerlerdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu biyopolimerlerin tek başlarına değil de birlikte kombine bir şekilde kullanımları önerilmektedir. Böylece probiyotik mikrokapsülün sindirim sisteminden geçişi sırasında her bir biyopolimer farklı reseptörleri etkileyeceğinden canlılığın daha fazla korunabileceği düşünülmektedir (Huq vd 2013).

4.2. Püskürterek Dondurma Formülasyonunun Belirlenmesi

Püskürterek dondurma yöntemi ile probiyotik mikroorganizma mikrokapsüllerinin üretiminde kullanılacak formülasyon denemeleri, farklı erime noktalarına sahip hidrojenize palm yağları (38°C, 45°C ve 53°C), hidrojenize hindistan cevizi yağı ve balmumu kullanılarak yürütülmüştür.

Yapılan ön denemelerde, hindistan cevizi yağının erime sıcaklığının (27°C) düşük olmasından dolayı, hızlı bir şekilde katı forma dönüşmediği ve dolayısıyla düzgün bir mikrokapsül formunun elde edilemediği belirlenmiştir. Ayrıca balmumu taşıyıcı materyalinin ise erime sıcaklığının (62°C) çok yüksek olması nedeniyle probiyotik mikroorganizmaların canlılık oranını düşürmesinden dolayı kullanılmasının uygun olmadığı değerlendirilmiştir.

Bu nedenlerle püskürterek dondurma çalışmalarında, yüksek probiyotik mikroorganizma canlılığı ve düzgün mikrokapsül yapısı sağlanması nedenleri ile erime sıcaklığı yaklaşık 38°C olan hidrojenize palm yağının kullanılmasının uygun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ön denemelerde, nozul sıcaklığı olarak 35-45°C ve su banyosu sıcaklığı olarak ise 37-45°C arasındaki sıcaklık değerleri denenmiş ve mikrokapsülasyon sırasında kullanılacak püskürterek dondurma parametreleri belirlenmiştir.

4.3. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi İle Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Mikrobiyolojik Özellikleri

4.3.1. *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.10'da, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11'de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre kaplama ve taşıyıcı materyal çeşidinin, mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre tek katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tek ve çift katlı mikrokapsüllerin içerdiği *S. bouldardii* sayısı arasındaki fark, çift katlı mikrokapsüllerin üretiminde tek katlı mikrokapsüllerin çekirdek materyali olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Taşıyıcı materyal çeşidine göre değerlendirildiğinde en yüksek *S. bouldardii* sayısı ve canlılığının sırasıyla 8.21 log kob/g ve %99.95 değeri ile püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerde (P) görüldüğü tespit edilmiştir. Püskürterek dondurma yöntemi sırasında, sınırlı ve daha düşük sıcaklıklar uygulandığından püskürterek kurutma işlemine göre daha yüksek canlılık değerleri sağlanmıştır. Bu nedenle, diğer yöntemlerle kıyaslandığında *S. bouldardii* mikroenkapsülasyonunda, püskürterek dondurma yönteminin daha etkin bir yöntem olduğu söylenebilir. İşlem sonunda *S. bouldardii* hücrelerinin canlılığı oldukça yüksek seviyede korunmuştur. Bu durumun nedeni ise probiyotik hücrelerin durağan faza kadar inkübe edilmesi olabilir. Meng vd (2008)'e göre durağan fazda hasat edilen hücreler strese karşı genel bir direnç geliştirilmekte ve böylece çok farklı ekstrem şartlara direnç kazanabilmektedir.

S. bouldardii sayısı ve canlılığında yöntemler arasında istatistiksel olarak bir fark oluşmamakla birlikte püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin ortalama *S. bouldardii* sayısı sırasıyla 7.07 ve 7.25 log kob/g olarak belirlenmiştir. Benzer sonuçlar yapılan diğer çalışmalarda da elde edilmiştir. Hebrard vd (2010) tarafından yapılan bir çalışmada aljinat kullanılarak mikroenkapsüle edilen *S. bouldardii* hücrelerinin sayısının ve canlılığının sırasıyla 8.93 log kob/g ve %95 olduğu bildirilmiştir (Hebrard vd 2010).

S. bouldardii hücrelerinin püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak mikroenkapsülasyonu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Duongthingoc vd (2013) tarafından yapılan çalışmada, peynir altı suyu proteini (PASP) taşıyıcı materyal olarak kullanılmış ve *S. bouldardii* hücreleri püskürterek kurutma sisteminde 90°C'de mikroenkapsüle edilmiştir. İşlem sonucunda elde edilen toz örneklerin *S. bouldardii* sayısı

8.07 log kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışma sonunda püskürtme sistemine göre daha büyük partikül boyutu elde edilirken (3 mm), canlı hücre sayısı 7.84 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Ancak yapılan literatür taramasında *S. bouldardii* hücrelerinin püskürterek dondurma sisteminde mikrokapsüle edilmesi ile ilgili hiçbir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Çizelge 4.10. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* (log kob/g) sayısı ve canlılığındaki (%) değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>S. bouldardii</i> sayısı	Canlılık
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.84	95.62
			7.98	97.24
	Çift	GS/P	6.12	95.01
			6.10	93.50
Püskürterek dondurma	Tek	P	6.22	100.62
			6.24	99.29
	Çift	P/GS	6.41	92.12
			6.18	90.23

Çizelge 4.11. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>S. bouldardii</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.06	6.13	1	0.09	0.08
Kaplama	1	6.46	628.14**	1	60.00	46.85**
Materyal	1	0.02	2.46*	1	21.81	17.03*
Hata	4			4		

Çizelge 4.12. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı (log kob/g) ve canlılığındaki (%) değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>S. bouldardii</i> sayısı	Canlılık
Tek	4	8.06 ^a ± 0.09	98.19 ^a ± 1.10
Çift	4	6.26 ^b ± 0.05	92.71 ^b ± 1.02
Materyal			
GS	2	7.92 ^b ± 0.07	96.43 ^b ± 0.81
GS/P	2	6.30 ^c ± 0.05	94.25 ^{cb} ± 0.66
P	2	8.21 ^a ± 0.01	99.95 ^a ± 0.76
P/GS	2	6.23 ^c ± 0.12	91.17 ^c ± 0.95

4.3.2. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.13'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.14'te ve önemli

bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre kaplama ve materyal çeşidinin mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikrokapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre tek katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının çift katlı mikrokapsüllere göre yüksek olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak yöntem bazında herhangi bir fark tespit edilememiş olup mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı püskürterek dondurma ve kurutma işlemi sonunda sırasıyla 7.12 ve 6.97 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen P mikrokapsüllerinin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı sırasıyla 8.10 log kob/g ve %97.21 olarak tespit edilmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminde uygulanan minimal ısı işlem sonucunda emülsiyon içerisindeki *L. acidophilus* hücreleri nerdeyse tamamıyla korunarak mikrokapsül haline getirilmiştir. Benzer sonuçlar Pedroso vd (2012) tarafından da elde edilmiştir. Çalışmalarda hidrojenize palm yağı ve kakao yağı kullanılarak *L. acidophilus* mikrokapsüle edilmiş olup elde edilen örneklerde *L. acidophilus* sayısı sırasıyla 7.0 ve 6.6 log kob/g olarak belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise üretilen mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı bu çalışma ile benzer bir şekilde 8.29-8.34 log kob/ g düzeyinde tespit edilmiştir (Okuro vd 2013b). Bampi vd (2016) püskürterek dondurma işlemi sonunda mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının 10.2 log kob/g ve canlılığın ise %96 olduğunu rapor etmiştir.

Çizelge 4.13. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* (log kob/g) sayısı ve canlılığındaki (%) değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>L. acidophilus</i> sayısı	Canlılık
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.83	94.00
			7.89	94.71
	Çift	GS/P	6.09	93.24
			6.07	92.07
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.89	95.80
			8.21	98.62
	Çift	P/GS	6.03	90.30
			6.22	90.01

Çizelge 4.14. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>L. acidophilus</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.04	3.31	1	0.09	0.08
Kaplama	1	7.03	553.64**	1	60.00	46.85**
Materyal	1	0.02	1.42*	1	21.81	17.03*
Hata	4			4		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.15. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı (log kob/g) ve canlılığındaki (%) değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı	Canlılık
Tek	4	7.98 ^a ± 0.09	95.78 ^a ± 1.10
Çift	4	6.10 ^b ± 0.04	91.40 ^b ± 1.02
Materyal			
GS	2	7.86 ^a ± 0.03	94.36 ^{ba} ± 0.81
GS/P	2	6.08 ^b ± 0.12	92.65 ^{bc} ± 0.66
P	2	8.10 ^a ± 0.01	97.21 ^a ± 0.76
P/GS	2	6.13 ^b ± 0.10	90.15 ^c ± 0.95

Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen GS mikrokapsüllerinin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı ise 7.86 log kob/g ve %94.36 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar P mikrokapsülü ile kıyaslandığı zaman düşük olmasına rağmen 120°C'lik kurutma sıcaklığı dikkate alındığında oldukça başarılı olarak değerlendirilebilmektedir. Çünkü probiyotik mikroorganizmalar için püskürterek kurutma sırasında canlılık oranı genellikle %70-85 olarak rapor edilmiştir (Huq vd 2013). Ayrıca püskürterek kurutma sırasında uygulanan 85-90°C'nin üzerindeki çıkış sıcaklıklarının probiyotik mikroorganizmalar için öldürücü etki yaptığı bildirilmektedir (Anekella ve Orsat 2013). Bu çalışmada püskürterek kurutma sonunda elde edilen yüksek canlılık oranının nedeninin ise işlem sırasında çıkış sıcaklığının düşük tutulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlara paralel olarak PASP kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile *L. paracasei* hücreleri mikrokapsüle edilmiş ve işlem sırasında çıkış sıcaklığı 55°C olarak ayarlanmıştır. İşlem sonunda probiyotik hücre canlılığını %93 olduğu tespit edilmiştir (Ilha vd 2015).

Püskürterek kurutma sırasında elde edilen mikroorganizma canlılık oranları doğrudan kurutma sıcaklığı ve kullanılan taşıyıcı materyalin özelliklerinden etkilenmektedir. Farklı sıcaklıkların ve taşıyıcı materyallerin kullanıldığı çalışmalarda daha düşük sonuçlar da elde edilebilmektedir. Yapılan bir çalışmada *L. acidophilus* hücreleri 125°C kurutma sıcaklığında maltodekstrin ve dekstroz kullanılarak mikrokapsüle edilmiş ve işlem sonucunda canlılık oranlarının %62-71 arasında değiştiği belirlenmiştir (Bustamante vd 2015). Arap zıncığı ve β-siklodekstrin kullanılarak mikrokapsüle edilen *L. acidophilus* hücrelerinin sayısının işlem sonunda yaklaşık 2 log azaldığı ve mikrokapsül örneklerinde değerinin 8.44-9.18 log kob/g arasında olduğu belirlenmiştir (Zhao vd 2008).

4.3.3. *B. bifidum* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığındaki değişime ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.16'da, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.17'de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre yöntem, kaplama ve materyal çeşidinin mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılıklarının, püskürterek kurutma ile üretilen mikrokapsüllere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu değerler püskürterek dondurma yöntemi için sırasıyla 7.13 log kob/g ve %92.52 iken püskürterek kurutma yöntemi için ise sırasıyla 6.88 log kob/g ve %82.02 olarak tespit edilmiştir. Tek katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı 7.91 log kob/g değeri ile çift katlı olanlara göre daha fazla iken, *B. bifidum* canlılığı ise çift katlı mikrokapsüllerde %93.74 değeri ile tek katlı olanlara göre daha yüksektir. Çift katlı mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon işlemi sırasında daha yüksek koruma sağladığı görülmektedir.

Püskürterek kurutma sisteminde elde edilen düşük canlılık oranı daha öncede bahsedildiği üzere kurutma sıcaklığından kaynaklanmaktadır. Püskürterek kurutma sırasında bakterilerde temel hasar hücre membranında meydana gelmektedir. Suyun uzaklaştırılması hücre membranına ve doğal olarak proteinlere zarar vermektedir. Çünkü su biyolojik moleküllerin üç boyutlu yapısının stabilizasyonunda önem taşımaktadır (Rokka ve Rantamaki 2010).

Materyal bazında bakıldığında ise *B. bifidum* sayısı 8.25 log kob/g değeri ile en yüksek P mikrokapsülünde tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Pedroso vd (2012) tarafından tespit edilmiş olup üretilen hidrofobik mikrokapsüllerin *B. lactis* sayısının 8.3 log kob/g olduğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise püskürterek dondurma sistemi ile enkapsüle edilen *B. animalis* hücrelerinin sayısının ve canlılığının sırasıyla 10.4 log kob/g ve %97 olduğu bildirilmiştir (Bampi vd 2016).

Çizelge 4.16. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* (log kob/g) sayısı ve canlılığındaki (%) değişime ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>B. bifidum</i> sayısı	Canlılık
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.56	77.29
			7.58	72.34
	Çift	GS/P	6.25	91.88
			6.11	86.55
Püskürterek dondurma	Tek	P	8.20	86.25
			8.31	87.34
	Çift	P/GS	6.03	98.59
			5.99	97.92

Çizelge 4.17. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığındaki değişime ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>B. bifidum</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.13	31.15**	1	220.81	32.45**
Kaplama	1	6.62	1586.78**	1	334.50	49.15**
Materyal	1	0.36	86.53**	1	4.34	0.64*
Hata	4			4		

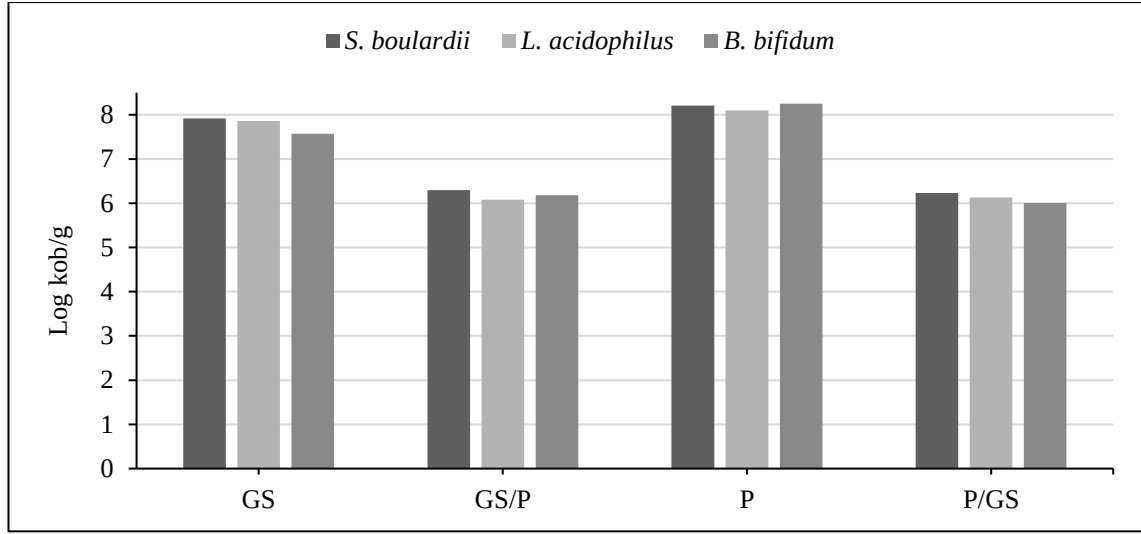
* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.18. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı (log kob/g) ve canlılığındaki (%) değişime ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

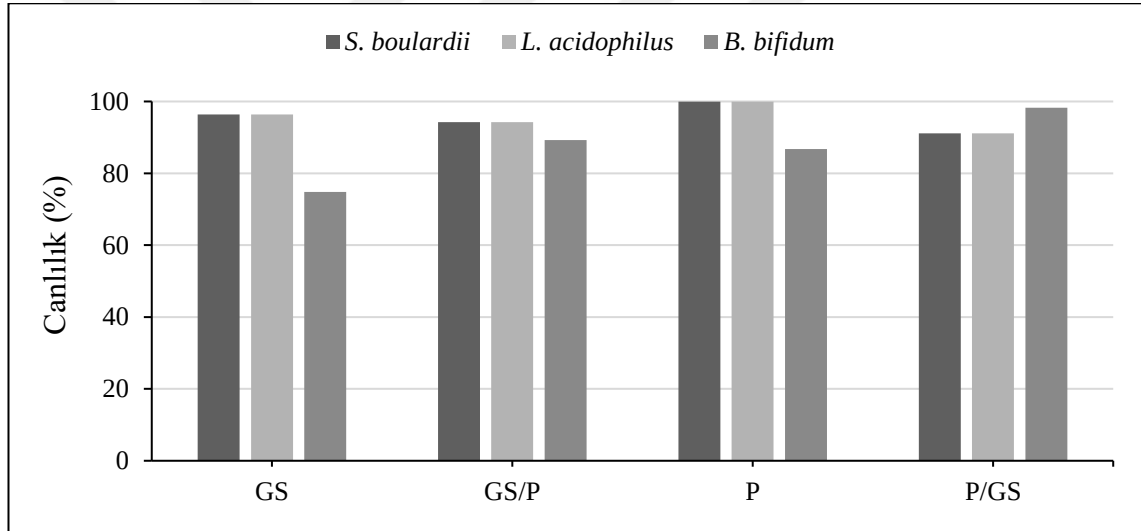
Yöntem	n	<i>B. bifidum</i> sayısı	Canlılık
Püskürterek Kurutma	4	6.88 ^b ± 0.40	82.02 ^b ± 4.41
Püskürterek Dondurma	4	7.13 ^a ± 0.65	92.52 ^a ± 3.32
Kaplama			
Tek	4	7.91 ^a ± 0.20	80.80 ^b ± 3.61
Çift	4	6.09 ^b ± 0.06	93.74 ^a ± 2.83
Materyal			
GS	2	7.57 ^b ± 0.00	74.81 ^c ± 2.48
GS/P	2	6.18 ^c ± 0.07	89.22 ^b ± 2.66
P	2	8.25 ^a ± 0.06	86.79 ^b ± 0.55
P/GS	2	6.01 ^c ± 0.02	98.25 ^a ± 0.34

4.3.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma içerikleri

Üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı ve canlılıkları Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Mikrokapsül örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayıları



Şekil 4.4. Mikrokapsül örneklerinin probiyotik mikroorganizma canlılıkları

Mikroenkapsülasyon işleminden sonra örneklerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayıları ve canlılıkları incelendiğinde, hidrofobik kaplama materyali kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma sayısının daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonucun en temel nedeni ise püskürterek dondurma yönteminde sıcaklık uygulanmadığından canlı hücreler ısıya maruz kalmamakta ve hücrelerde herhangi bir dehidrasyon meydana gelmemektedir. Böylece üretilen mikrokapsül örneklerinde daha fazla mikroorganizma canlılığı tespit edilebilmektedir.

4.4. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin *in vitro* Mide sistemi Direnci

4.4.1. *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının *in vitro* mide sistemine direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.19'da, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.20'de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde; mikrokapsülasyon yöntemi, kaplama ve taşıyıcı materyal çeşidinin mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak test süresinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kaplama, materyal çeşidi ve sürenin *S. bouldardii* canlılığı üzerinde önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikrokapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde en yüksek *S. bouldardii* sayısı 6.83 log kob/g değeri ile püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerde elde edilmiştir. Ayrıca materyal bazında incelendiğinde ise P mikrokapsülü diğer mikrokapsüllere oranla *S. bouldardii* sayısını ve canlılığını daha çok desteklemiştir. Hidrofobik kaplama materyali mide şartlarında çözünmeden çekirdek materyal olan *S. bouldardii* hücrelerini korumuştur.

Tek katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Mide sisteminin düşük pH değeri ve pepsin enzimi varlığında çift katlı mikrokapsüller, *S. bouldardii* hücreleri üzerinde ekstrasdan bir koruma sağlamamıştır.

S. bouldardii sayısı test süresi boyunca değişmeyerek ortalama olarak 6.65 log kob/g seviyesinde kalmıştır. Mikrokapsüle edilmeyen serbest *S. bouldardii* hücrelerinin kontrol olarak test edildiği denemelerde ise 3 h inkübasyon süresi boyunca hücre sayısında yalnızca 0.70 logaritmik birimlik bir azalış meydana geldiği ve bu süre sonunda *S. bouldardii* hücrelerinin yaklaşık %90'dan fazlasının canlılığını koruduğu belirlenmiştir. *S. bouldardii* hücrelerinin mide asitliğine oldukça dayanıklı olduğu bilinmektedir (Hebrard vd 2010). *In vitro* mide sistemi test denemelerinde hücrelerin %100'den fazla canlılık sağlamanın nedeni ise mikrokapsüllerin ikinci örnekleme zamanında, birinci örnekleme zamanına kıyasla daha fazla açılmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Maya hücreleri, bakteri hücreleri ile kıyaslandığında mide sisteminin ekstrem şartlarına daha dayanıklıdır. Graff vd (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, ekstrüzyon yöntemi ile aljinat içerisinde *S. bouldardii* hücreleri mikrokapsül haline getirilmiştir. Mikrokapsül örnekleri 0.1 N HCl ve pH değeri 1.1'e ayarlanmış PBS içerisinde 2 h süre ile bekletilmiş ve bu süre sonunda *S. bouldardii* sayısının test süresinin ilk 5 dk 1 logaritmik birimlik azalış gösterdiği ancak ardından önemli bir değişiklik göstermediği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise aljinat içerisinde mikrokapsüle edilen *S.*

boulardii hücrelerinin mide sistemi şartlarında 3 h herhangi bir değişikliğe uğramadan kaldığı tespit edilmiştir (Gallo vd 2014).

Çizelge 4.19. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* (log kob/g) sayısının ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

			<i>S. boulardii</i> sayısı					Canlılık				
Yöntem	Kaplama	Materyal	Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.48	7.48	7.10	6.97	7.23	100	100.10	94.96	93.18	96.70
			7.60	7.55	7.46	7.44	7.32	100	99.23	98.05	97.81	96.25
	Çift	GS/P	5.69	5.78	5.64	5.56	5.46	100	101.61	99.11	97.77	95.89
			5.60	5.54	5.49	5.45	5.33	100	98.96	98.07	97.30	95.22
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.64	7.33	7.72	7.87	7.71	100	95.94	101.01	103.09	101.01
			7.88	7.40	7.54	7.88	7.62	100	93.89	95.74	100.05	96.68
	Çift	P/GS	5.76	5.89	5.83	5.81	5.90	100	102.14	101.20	100.74	102.37
			6.13	6.27	5.94	6.19	6.26	100	102.27	96.87	100.98	102.16
Serbest hücreler			7.32	7.41	7.25	7.06	6.76	100	101.23	99.04	96.45	92.35
			7.47	7.13	7.10	7.07	6.62	100	95.45	95.05	94.65	88.62

Çizelge 4.20. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* sayısının ve canlılığının *in vitro* mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>S. boulardii</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	1.37	38.90**	1	1.11	0.16
Kaplama	1	30.15	854.52**	1	33.70	4.93*
Materyal	1	0.05	1.53*	1	72.42	10.59**
Süre	4	0.09	0.61	3	14.75	2.16*
Hata	32			25		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.21. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yöntem	n	<i>S. boulardii</i> sayısı	n	Canlılık
Püskürterek Kurutma	20	6.46 ^b ± 0.19	16	97.51 ^a ± 0.53
Püskürterek Dondurma	20	6.83 ^a ± 0.21	16	97.89 ^a ± 1.03
Kaplama				
Tek	20	7.51 ^a ± 0.06	16	98.72 ^a ± 0.71
Çift	20	5.78 ^b ± 0.07	16	96.67 ^b ± 1.36
Materyal				
GS	10	7.36 ^b ± 0.07	8	97.03 ^b ± 0.80
GS/P	10	5.55 ^d ± 0.06	8	97.99 ^{ba} ± 0.71
P	10	7.66 ^a ± 0.04	8	100.42 ^a ± 0.92
P/GS	10	6.00 ^c ± 0.06	8	95.35 ^b ± 1.36
Serbest hücreler		7.12 ± 0.26		95.35 ± 3.86
Süre (dk.)				
0	8	6.72 ^a ± 0.36		
60	8	6.65 ^a ± 0.31	8	99.35 ^a ± 0.89
90	8	6.59 ^a ± 0.34	8	97.77 ^{ba} ± 1.13
120	8	6.64 ^a ± 0.36	8	97.65 ^{ba} ± 0.73
180	8	6.60 ^a ± 0.35	8	96.02 ^b ± 1.54

4.4.2. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığını *in vitro* mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.22’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.23’te ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.24’te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde, kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve süre mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$) bir etkisinin olduğu ancak mikrokapsülasyon yönteminin önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde; tek katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı, çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Ancak çift katlı mikrokapsüllerin düşük pH değerinde ve pepsin enzimi varlığında tek katlı mikrokapsüllere oranla *L. acidophilus* hücrelerini daha iyi koruduğu tespit edilmiştir.

Materyal bazında incelendiğinde ise en yüksek *L. acidophilus* sayısını, 6.30 log kob/g seviyesi ile P mikrokapsülünün sağladığı belirlenmiştir. Bu sonucun nedeni ise mide şartlarında hidrofobik fazın daha fazla koruyucu etki göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. *L. acidophilus* canlılık oranları göz önüne alındığında çift katlı GS/P ve P/GS mikrokapsüllerinin sırasıyla %89.25 ve %86.24 canlılık sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca *L. acidophilus* sayısının test süresi boyunca azalarak sırasıyla 6.37 değerinden

5.08 log kob/g değerine ve canlılığının ise %91.23 seviyesinden %79.93 seviyesine düştüğü görülmüştür. Benzer sonuçlar Ilha vd (2015) tarafından *L. paracasei* hücrelerinin püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu çalışmasında da elde edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise PASP kullanılarak *L. reuteri* mikroenkapsüle edilmiş ve mide sistemi şartlarında mikrokapsüllerin canlılığı test edilmiştir. Mide çözeltisinde inkübasyon sırasında ilk 30 dk hücrelerin yaklaşık %85'inin kaybedildiği ve bu süreden sonra seviyenin neredeyse aynı kaldığı tespit edilmiştir (Jantzen vd 2013).

Mikroenkapsüle edilmemiş serbest *L. acidophilus* hücreleri ile yapılan mide sistemi testinde ise 3 h süre sonunda *L. acidophilus* sayısının yaklaşık olarak 1.34 log kob/g değerine düştüğü ve canlılığının ise %17 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ilerleyen test sürelerinde ise *L. acidophilus* hücrelerinin tamamının canlılığını kaybettiği gözlenmiştir.

Serbest *L. acidophilus* hücreleri 60. dk'dan sonra hiçbir canlılık göstermez iken mikrokapsül örneklerinin *L. acidophilus* sayısı ise 3 h test süresi sonunda 5.08 log kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan anlaşılabileceği üzere mikroenkapsülasyon işlemi *L. acidophilus* hücrelerinin mide şartlarının yüksek asitlik varlığına dayanımını arttırmıştır. Ayrıca, en yüksek koruyucu etki P hidrofobik mikrokapsül materyalinde 6.30 log kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Kaplama türü bazında bakıldığında ise çift katlı mikrokapsül örnekleri tek katlı mikrokapsül örnekleri ile kıyaslandığında *in vitro* mide ortamında daha yüksek koruma sağlamıştır. P mikrokapsülünün bu koruyucu etkisi partikül boyutunun büyük olmasından da kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada partikül boyutunun büyümesi, ile *Lactobacillus* ssp'nin simüle mide sisteminde canlılığının artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Chandramouli vd 2004). Benzer sonuçlar bu çalışmada tespit edildiği gibi diğer başka çalışmalarda da tespit edilmiştir. Yapılan bir püskürterek dondurma çalışmasında 210 dk sonunda serbest hücre tespit edilemezken mikroenkapsüle *L. acidophilus* hücrelerinin %60'ının simüle mide ortamında canlı kaldığı bildirilmiştir (Okuro vd 2013b). Yapılan bir başka çalışmada püskürterek dondurma yöntemiyle üretilen mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının 5 saatlik simüle mide-bağırsak sindirim ortamında serbest hücrelerin tespit edilememesine karşın mikroenkapsüle formlarının ise %91.8'inin canlı kaldığı bildirilmiştir (Pedroso vd 2012).

Mide, yüksek asit içeriği nedeniyle en fazla hücre kaybedilen sindirim organıdır. Mide içeriğinin pH değeri genellikle 1-2.5 arasında bulunmakta ve yeme zamanı, diyet ve yaş gibi faktörlerden etkilenmektedir. Mide ortamının asitliğinin yanında bir başka önemli etken ise beslenmeyle alınan proteinleri yıkan pepsin enzimini içermesidir. Pepsin enzimi, düşük pH değerinde öncü zimojen ve pepsinojenden, otokatalitik hidrolizle üretilmektedir. Sindirim insan bünyesine bağlı olarak değişmekle birlikte 6-32 h arasında tamamlanmaktadır (Cook vd 2012). Ağızdan alınan probiyotik bakteriler bu süre içerisinde yüksek asitlik ve enzimler arasından geçerek asıl etki gösterdikleri bölge olan kolona geçmelidirler. Tüm bunlar göz önüne alındığında probiyotik mikroorganizmaların pH değeri 2 olan mide sisteminden geçebilmeleri için mikroenkapsüle edilmeleri oldukça önemlidir (Huq vd 2013).

Çizelge 4.22. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

		<i>L. acidophilus</i> sayısı						Canlılık				
Yöntem	Kaplama Materyal		Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.04	6.44	5.38	4.28	5.74	100	91.41	76.41	67.13	81.49
			7.08	6.20	5.58	4.70	5.78	100	87.59	78.78	66.34	81.58
	Çift	GS/P	5.45	4.52	5.02	5.20	5.24	100	82.86	92.15	95.38	96.17
			5.42	4.91	4.94	4.99	4.00	100	90.63	91.05	92.02	73.78
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.51	6.77	5.88	5.89	5.81	100	90.13	78.30	78.45	77.31
			7.36	6.70	6.04	5.18	5.87	100	91.01	82.02	70.27	79.76
	Çift	P/GS	5.21	5.39	4.65	4.42	4.08	100	103.44	89.23	84.79	78.22
			5.83	5.41	5.08	4.84	4.15	100	92.81	87.16	83.14	71.15
Serbest hücreler			4.81	2.01				100	41.79			
			4.60	2.04	te	te	te	100	44.35	te	te	te

te: Tespit edilemedi

Çizelge 4.23. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının *in vitro* mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	<i>L. acidophilus</i>			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.35	1.93	1	1.79	0.04
Kaplama	1	13.14	72.86**	1	496.12	10.20**
Materyal	1	0.62	3.45*	1	51.56	1.06*
Süre	4	2.58	14.30**	3	233.26	4.79**
Hata	32			25		

Çizelge 4.24. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	20	6.08 ^a ± 0.18	16	79.87 ^b ± 1.93
Çift	20	4.93 ^b ± 0.11	16	87.75 ^a ± 2.12
Materyal				
GS	10	5.87 ^b ± 0.26	8	78.84 ^b ± 3.13
GS/P	10	4.97 ^c ± 0.24	8	89.25 ^a ± 2.63
P	10	6.30 ^a ± 0.14	8	80.91 ^b ± 2.42
P/GS	10	4.91 ^c ± 0.18	8	86.24 ^{ba} ± 3.41
Serbest hücreler		1.34 ± 2.07		17.22 ± 23.61
Süre (dk.)				
0.	8	6.37 ^a ± 0.34		
60.	8	5.79 ^b ± 0.30	8	91.23 ^a ± 2.06
90.	8	5.32 ^c ± 0.17	8	84.39 ^{ba} ± 2.21
120.	8	4.99 ^c ± 0.16	8	79.69 ^b ± 3.92
180.	8	5.08 ^c ± 0.34	8	79.93 ^b ± 2.65

4.4.3. *B. bifidum* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının ve canlılığının *in vitro* mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.25'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.26'da ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.27'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal ve süre mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre tek katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. *L. acidophilus* hücrelerinin canlılık sonuçları ile kıyaslandığında, çift katlı kaplama tekniği *B. bifidum* hücrelerinin mide ortam şartlarında dayanımını arttırmamıştır. Materyal bazında bakıldığında ise en yüksek *B. bifidum* sayısı 6.07 log kob/g değeri ile P mikrokapsülünde elde edilirken, mide şartlarında GS mikrokapsülünün ise *B. bifidum* hücrelerini daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca *B. bifidum* sayısının *in vitro* test süresi boyunca azalarak sırasıyla 5.53 değerinden 4.95 log kob/g değerine ve canlılığının ise %96.67 seviyesinden %89.63 seviyesine düştüğü tespit edilmiştir. Bu canlılık oranları *B. bifidum* için oldukça iyidir. Çünkü *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin mide ortamında yüksek asitlik direncinin genellikle düşük olduğu bildirilmektedir (De Castro-Cislaghi vd 2012). Bu nedenle *Bifidobacterium*'ların probiyotik etkisinin sürdürülebilmesi için mutlaka mikroenkapsüle formları kullanılmalıdır. Öyle ki konuyla ilgili yapılan bir çalışmada pH 2 seviyesinde bekletilen mikroenkapsüle ve serbest *Bifidobacterium* hücrelerinden 3 h sonunda serbest formlarında meydana gelen azalışın enkapsüle formlarla kıyaslandığında iki kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (De Castro-Cislaghi vd 2012). Benzer sonuçlar püskürterek dondurma yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiş *B. lactis* hücrelerinde de görülmüş olup simüle sindirim ortamında 5 h süre sonunda serbest hücrelerin iki kat daha fazla azaldığı ve mikroenkapsüle hücrelerin yaklaşık %90'ının canlılığını koruduğu bildirilmiştir (Pedroso vd 2012). Lian vd (2003) tarafından yürütülen bir denemede ise mikroenkapsüle edilen *B. longum* ve *B. infantis* hücrelerinin mide sisteminde 4 h sonunda canlılıklarının %81-95 ve %65-92 olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.25. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

		<i>B. bifidum</i> sayısı						Canlılık				
Yöntem	Kaplama Materyal		Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	6.08	6.00	5.96	5.47	5.37	100	98.71	97.94	89.96	88.39
			6.08	6.01	5.90	5.34	5.39	100	98.94	97.10	87.82	88.65
	Çift	GS/P	4.87	5.43	4.30	5.11	4.97	100	89.71	78.98	93.94	91.42
			5.02	4.48	4.36	3.97	4.25	100	89.24	86.98	79.19	84.62
Püskürterek dondurma	Tek	P	6.76	6.61	6.65	5.70	5.46	100	97.85	98.36	84.26	80.72
			6.20	5.65	6.25	5.60	5.85	100	91.20	100.91	90.38	94.49
	Çift	P/GS	4.50	4.11	4.06	3.03	4.75	100	91.32	90.18	71.12	77.65
			4.73	4.47	4.17	3.20	3.50	100	94.61	88.24	64.10	100.53
Serbest hücreler			7.47	5.52	5.30	2.48	te	100	73.91	70.97	33.17	te
			7.46	5.48	3.00	2.48	te	100	73.46	40.21	33.21	te

te: Tespit edilemedi

Çizelge 4.26. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının ve canlılığının *in vitro* mide sistemi direncine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>B. bifidum</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.23	1.56	1	20.59	0.42
Kaplama	1	24.07	159.12**	1	405.06	8.27**
Materyal	1	2.19	14.51**	1	1.53	0.03*
Süre	4	0.91	6.00**	3	204.64	4.18*
Hata	32			25		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.27. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* mide sistemi direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

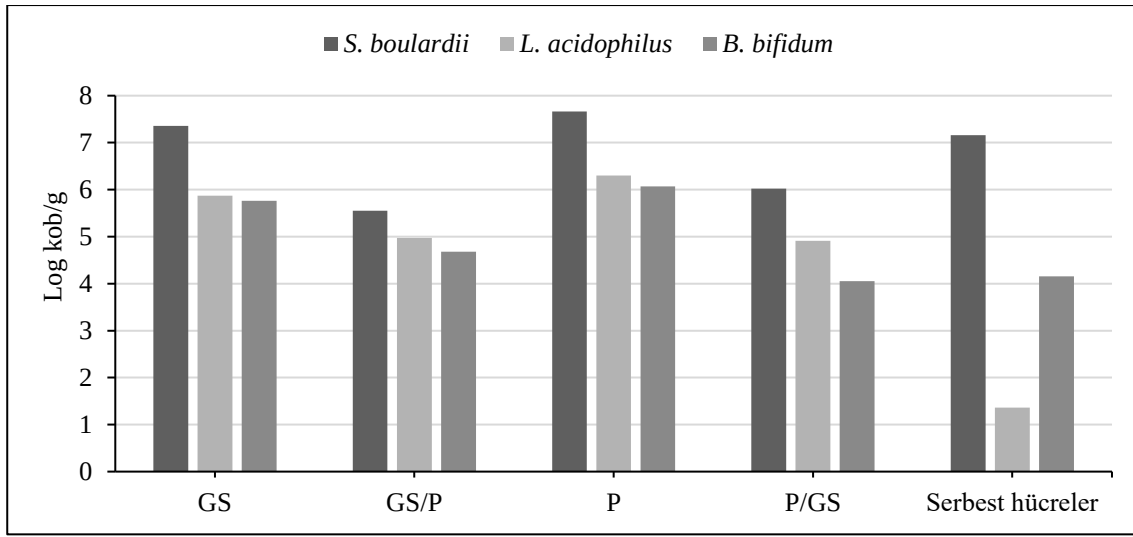
Kaplama	n	<i>B. bifidum</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	20	5.91 ^a ± 0.10	16	92.85 ^a ± 1.50
Çift	20	4.37 ^b ± 0.14	16	85.74 ^b ± 2.35
Materyal				
GS	10	5.76 ^a ± 0.10	8	93.44 ^a ± 1.81
GS/P	10	4.68 ^b ± 0.15	8	86.76 ^{ba} ± 1.94
P	10	6.07 ^a ± 0.15	8	92.27 ^{ba} ± 2.50
P/GS	10	4.05 ^c ± 0.20	8	84.72 ^b ± 4.42
Serbest hücreler		3.92 ± 2.85		40.62 ± 30.51
Süre				
0.	8	5.53 ^a ± 0.30		-
60.	8	5.35 ^{ba} ± 0.32	8	96.67 ^a ± 1.45
90.	8	5.21 ^{ba} ± 0.38	8	93.48 ^a ± 2.65
120.	8	4.67 ^c ± 0.39	8	83.96 ^b ± 3.68
180.	8	4.94 ^{bc} ± 0.27	8	89.63 ^{ba} ± 2.61

In vitro mide şartlarında, serbest *B. bifidum* hücrelerinin sayısında ciddi bir azalış meydana gelerek 120 dk sonunda 7.47 log kob/g seviyesinden 2.48 log kob/g seviyesine düştüğü belirlenmiştir. 180 dk test süresi sonunda ise hiçbir *B. bifidum* canlılığı tespit edilememiştir. Yapılan bir çalışmada serbest *B. bifidum* hücrelerinde pH 2.5 ortamında 2 h sonunda hiç canlılık tespit edilemezken enkapsüle hücreler de ise yalnızca 2 logaritmik birimlik bir azalış olduğu rapor edilmiştir (Huq vd 2013).

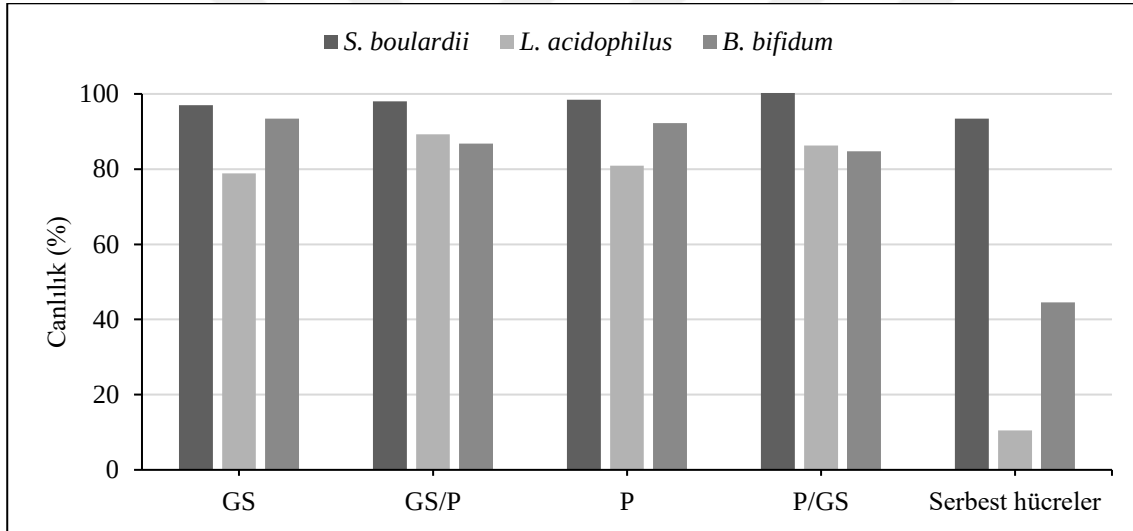
Mikrokapsül örneklerinin *B. bifidum* sayısı ise 180 dk test süresi sonunda 4.94 log kob/g seviyesinde kalmış ve yaklaşık %89'unun canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan anlaşılabileceği üzere mikroenkapsülasyon işlemi *B. bifidum* hücrelerinin mide şartlarının ekstrem koşullarına dayanımını önemli düzeyde arttırmıştır. Mikroenkapsüle *B. bifidum* hücrelerinin *L. acidophilus* ile karşılaştırıldığında, *in vitro* mide ortamına daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin ise probiyotik mikroorganizmaların asit ve safra tuzuna karşı farklı dirençler göstermesinden kaynaklandığı bilinmektedir (De Castro-Cislaghi vd 2012). Konu ile ilgili daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada, püskürterek dondurma yöntemiyle üretilen mikrokapsüllerden *B. lactis* hücrelerin, *L. acidophilus* hücrelerine göre simüle sindirim ortamına daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Pedroso vd 2012).

4.4.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin *in vitro* mide sistemi testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler

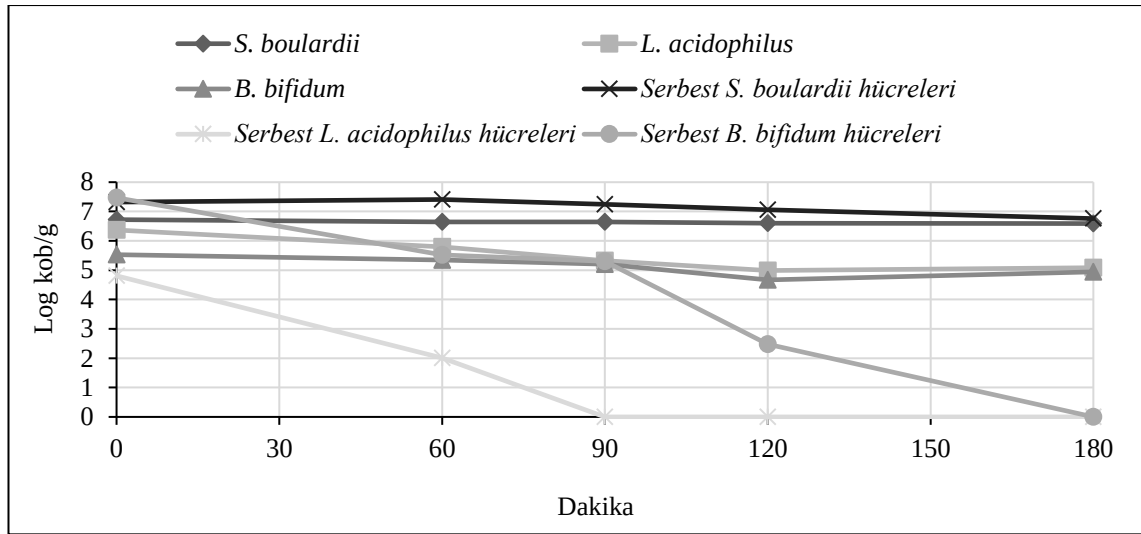
In vitro mide testi sonuçlarına göre mikroenkapsüle edilmiş *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizmalarının kaplama materyali bazında ki sayısı ve canlılığındaki değişime ait veriler Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Ayrıca 3 saatlik test süresi boyunca hem mikrokapsül halindeki hem de serbest formdaki probiyotik mikroorganizmaların zamana göre sayısı ve canlılıklarında ki değişime ait elde edilen veriler Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir.



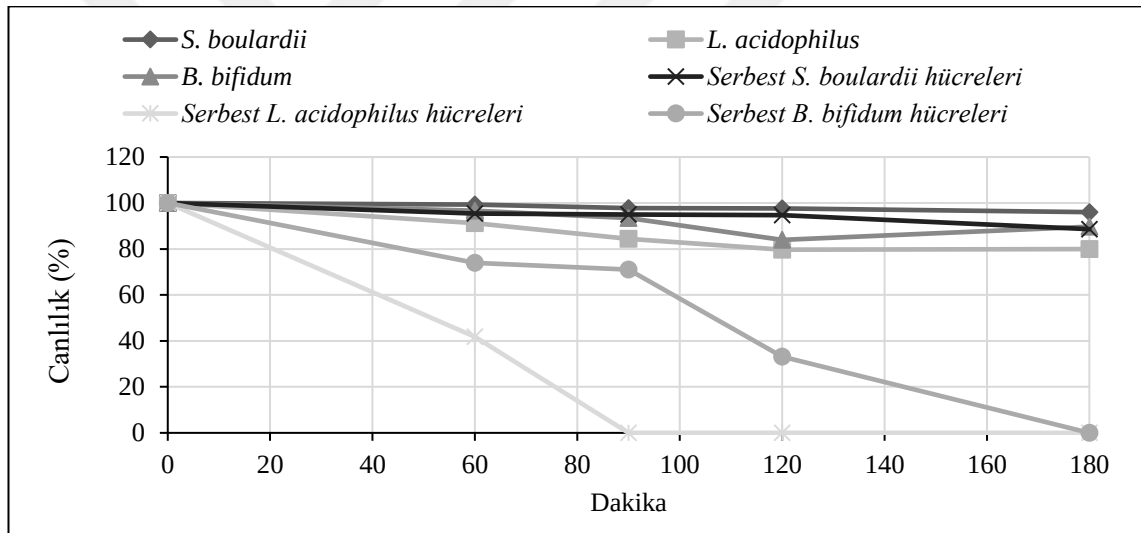
Şekil 4.5. Mikrokapsüllerin *in vitro* mide ortam testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları



Şekil 4.6. Mikrokapsüllerin *in vitro* mide sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları



Şekil 4.7. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının *in vitro* mide sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi



Şekil 4.8. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının *in vitro* mide sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi

Yapılan *in vitro* mide sistemi testi verilerine göre mikrokapsül örneklerinin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* canlılıklarının 180 dk test süresi boyunca yaklaşık %80'in üstünde korunduğu belirlenmiştir. Mikroenkapsüle edilmemiş serbest formlar ile yapılan denemelerde ise *L. acidophilus* ve *B. bifidum* hücrelerinin test süresi boyunca canlılıklarını koruyamadığı tespit edilmiştir. Ayrıca serbest *S. boulardii* hücreleri ile yapılan teste ise maya hücrelerinin mide ortamının ekstrem şartlarına oldukça dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Yapılan literatür çalışmalarına göre mikrokapsülasyonun koruyucu etkisinin spesifik olduğu ve her tür üzerinde aynı etkiyi sağlamadığı bildirilmektedir (Lahtinen vd 2007).

4.5. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin *in vitro* Bağırsak Sistemi Direnci

4.5.1. *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistemine direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.28’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.29’da ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.30’da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* bağırsak sistemi testinde, mikrokapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi ve materyallerin mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak test süresinin yalnızca *S. bouldardii* canlılığı üzerinde önemli ($p<0.05$) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı, püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlere göre daha yüksektir.

Materyal bazında incelendiğinde ise en yüksek *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının Arap zambaki içeren formülasyonda sağlandığı ve palm yağı ile hazırlanan formülasyonların ise daha düşük koruma sağladığı tespit edilmiştir. Bu sonucun nedeninin ise bağırsak sistemi simülasyonunda kullanılan pankreatin enziminin ve safra tuzlarının hidrofobik materyalin daha hızlı çözünmesine ve maya hücreleri üzerinde daha az koruyucu etki sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tek katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Bu sonuçların nedeni ise başlangıçta tek katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* içeriğinin çift katlı olanlara göre daha fazla olmasıdır.

Üç saatlik test süresi sonunda başlangıçta bulunan *S. bouldardii* hücrelerinin %90’ının canlılığını koruduğu ve süre sonunda *S. bouldardii* sayısının 6.18 log kob/g seviyesinde kaldığı belirlenmiştir.

Mikrokapsüle edilmemiş serbest *S. bouldardii* hücreleri ile yapılan *in vitro* bağırsak testinde ise 3 h süre sonunda *S. bouldardii* hücrelerinin yaklaşık %85’inin canlılığını koruduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar *in vitro* mide testinde de elde edilmiş olup bu durumun *S. bouldardii* hücrelerinin ökaryot yapıda olmasından ve sindirim enzimleri ve safra tuzlarına bakterilere göre daha fazla dirençli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.28. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldarii* (log kob/g) sayısının ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>S. bouldarii</i> sayısı					Canlılık				
			Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.11	7.62	7.31	7.53	7.34	100	107.11	102.77	105.87	103.24
			7.58	7.67	7.42	7.46	7.36	100	101.14	97.80	98.30	97.10
	Çift	GS/P	5.77	5.70	5.70	5.50	5.74	100	98.77	97.06	95.22	99.48
			5.74	5.71	5.71	5.71	5.67	100	99.43	100.07	99.43	98.89
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.61	7.23	7.35	6.93	5.98	100	94.98	96.58	91.02	78.52
			7.60	7.10	7.33	6.60	6.46	100	93.36	96.48	86.85	85.01
	Çift	P/GS	6.04	5.46	5.18	5.08	4.95	100	90.42	85.68	84.07	82.00
			6.25	5.91	5.17	4.93	5.15	100	94.43	82.65	78.82	82.28
Serbest hücreler			8.15	8.05	7.56	7.24	7.03	100	98.81	92.82	88.94	86.34
			8.56	8.15	7.91	7.56	7.30	100	95.21	92.43	88.31	85.33

Çizelge 4.29. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldarii* sayısının ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistem direncine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>S. bouldarii</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	1.22	8.88**	1	1231.69	80.51*
Kaplama	1	28.22	204.52**	1	142.09	9.26**
Materyal	1	0.05	0.39*	1	9.53	0.62*
Süre	4	0.13	0.91	3	67.30	4.40*
Hata	32			25		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.30. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* (log kob/g) sayısının ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistem direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yöntem	n	<i>S. boulardii</i> sayısı	n	Canlılık
Püskürterek Kurutma	20	6.56 ^a ± 0.20	16	100.10 ^a ± 0.81
Püskürterek Dondurma	20	6.21 ^b ± 0.21	16	87.70 ^b ± 1.56
Kaplama				
Tek	20	7.23 ^a ± 0.10	16	96.01 ^a ± 1.94
Çift	20	5.55 ^b ± 0.08	16	91.79 ^b ± 1.97
Materyal				
GS	10	7.44 ^a ± 0.05	8	101.66 ^a ± 1.33
GS/P	10	5.69 ^c ± 0.03	8	98.54 ^a ± 0.57
P	10	7.02 ^b ± 0.17	8	90.35 ^b ± 2.27
P/GS	10	5.41 ^c ± 0.15	8	85.04 ^c ± 1.79
Serbest hücreler		7.75 ± 0.49		91.02 ± 4.62
Süre (dk.)				
0.	8	6.43 ^a ± 0.41	-	-
60.	8	6.46 ^a ± 0.37	8	97.45 ^a ± 1.86
90.	8	6.39 ^a ± 0.37	8	94.89 ^{ba} ± 2.47
120.	8	6.50 ^a ± 0.30	8	92.45 ^b ± 3.16
180.	8	6.18 ^a ± 0.27	8	90.81 ^b ± 3.46

4.5.2. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.31’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.32’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.33’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* mide sistemi testinde, mikrokapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal ve süre mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı üzerine önemli ($p < 0.01$; $p < 0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikrokapsülasyon yöntemi, taşıyıcı materyal ve sürenin *L. acidophilus*’un canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$) bir etkide bulunurken, kaplama çeşidinin ise önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı, püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllere oranla daha yüksektir. Tek katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilirken, canlılık değerinde ise bir fark gözlenmemiştir. Materyal bazında bakıldığında GS mikrokapsülünün 7.11 log kob/g değeri ile yüksek canlılık sağlamıştır. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı test süresi boyunca azalarak sırasıyla 5.00 log kob/g ve %84.08 seviyesine düşmüştür.

Serbest *L. acidophilus* hücrelerinin aynı *in vitro* bağırsak ortamı şartlarda inkübasyonu sonuncunda ikinci saatten sonra canlı hücre sayısı tespit edilememiştir. Mikroenkaspüle edilen örneklerde ise 3 h sonunda tüm taşıyıcı madde %75 değerinin üzerinde canlılık sağlanmıştır.

Probiyotik mikroorganizmaların sindirim sisteminden geçişi sırasında canlılıklarının kaybedilmesinde yüksek asitlik kadar safra tuzlarının varlığı da etkili olmaktadır. Bir çalışmada serbest *L. paracasei* sayısının safra tuzu miktarının iki katına çıkarılmasıyla yaklaşık 2 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir (Ilha vd 2015). Safra tuzunun bu öldürücü etkisi antimikrobiyal aktivitesi ve deterjan özelliğinden ileri gelmekte olup bu etki ile bakterilerin hücre membranı çözünmekte ve canlılıkları kaybolmaktadır (Okuro vd 2013b).

Çizelge 4.31. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistemi direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

			<i>L. acidophilus</i> sayısı					Canlılık				
Yöntem	Kaplama	Materyal	Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.69	7.52	7.66	7.69	6.03	100	97.78	99.57	99.57	78.40
			7.36	7.16	7.03	7.02	5.98	100	97.29	95.59	95.59	81.30
	Çift	GS/P	4.85	4.56	4.74	4.70	4.30	100	94.04	97.84	96.98	88.77
			4.30	4.61	3.70	4.90	4.57	100	107.25	86.00	114.00	106.35
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.62	6.96	7.64	7.02	6.18	100	91.35	100.1	92.09	81.02
			7.46	6.75	7.65	6.75	5.67	100	90.47	102.5	90.55	76.04
	Çift	P/GS	4.30	3.00	2.78	4.37	3.65	100	69.75	64.59	101.50	84.94
			4.82	3.00	2.81	4.00	3.65	100	62.25	58.36	83.00	75.80
Serbest hücreler			4.49	3.08	2.48	2.00	Te	100	68.60	55.23	44.54	Te
			4.93	3.40	3.30	2.00	Te	100	68.97	66.94	40.57	Te

Te: Tespit edilemedi

Çizelge 4.32. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistem direncine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>L. acidophilus</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	2.64	9.97**	1	1406.54	14.29**
Kaplama	1	87.70	330.47**	1	191.05	1.94
Materyal	1	1.37	5.17*	1	902.36	9.17**
Süre	4	1.25	4.72**	3	223.00	2.27*
Hata	32			25		

Çizelge 4.33. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistem direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yöntem	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı	n	Canlılık
Püskürterek Kurutma	20	5.82 ^a ± 0.32	16	96.04 ^a ± 2.39
Püskürterek Dondurma	20	5.30 ^b ± 0.41	16	82.78 ^b ± 2.14
Kaplama				
Tek	20	7.04 ^a ± 0.14	16	91.85 ^a ± 1.93
Çift	20	4.08 ^b ± 0.16	16	86.96 ^a ± 2.12
Materyal				
GS	10	7.11 ^a ± 0.20	8	93.17 ^a ± 3.13
GS/P	10	4.52 ^b ± 0.11	8	98.90 ^a ± 2.63
P	10	6.97 ^a ± 0.21	8	90.53 ^a ± 2.42
P/GS	10	3.64 ^c ± 0.23	8	75.02 ^b ± 3.41
Serbest hücreler		2.57 ± 1.74		43.11 ± 28.68
Süre (dk.)				
0.	8	6.05 ^a ± 0.57	-	-
60.	8	5.44 ^{bc} ± 0.66	8	88.77 ^{ba} ± 2.06
90.	8	5.50 ^{bac} ± 0.79	8	88.09 ^{ba} ± 2.21
120.	8	5.81 ^{ba} ± 0.51	8	96.69 ^a ± 3.92
180.	8	5.00 ^c ± 0.38	8	84.08 ^b ± 2.65

4.5.3. *B. bifidum* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.34’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.35’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.36’da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* bağırsak sistemi testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal ve test süresinin mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon yönteminin *B. bifidum* canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$) bir etkisi olduğu ancak *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerde bulunan *B. bifidum* canlılığı, püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerle yaklaşık aynıdır. Materyal bazında bakıldığında ise P mikrokapsülü 6.78 log kob/g değeri ile en yüksek korumayı sağlamıştır. *L. acidophilus* ve *S. boulardii* sayıları ile kıyaslandığında GS mikrokapsülü ise P mikrokapsülüne oranla daha düşük *B. bifidum* sayısı sağlamıştır. Ancak her ne kadar istatistiksel olarak bir fark bulunmamış olsa da GS mikrokapsülünün *in vitro* bağırsak ortamında başlangıç *B. bifidum* sayısının %89’unu koruyabildiği görülmektedir. Hidrofobik taşıyıcı materyallerde ise bu oran %85 ve %64 (P ve P/GS) seviyesinde tespit edilmiştir. Bunun nedeni ise daha öncede bahsedildiği üzere lipid fazın pankreatin ve safra tuzu varlığında daha dayanıksız olmasıdır.

İlerleyen *in vitro* bağırsak testi süresi ile birlikte beklenildiği gibi *B. bifidum* sayısı azalarak 5.64 log kob/g değerinden 4.22 log kob/g değerine düşmüştür. Püskürterek kurutma sisteminde PASP ile mikroenkapsüle edilen *B. bacterium* hücrelerinin %0.5 safra tuz varlığında 6 h sonunda 1.71 log azaldığı belirlenmiştir (De Castro-Cislaghi vd 2012). Mikroenkapsüle edilmemiş serbest formdaki *B. bifidum* hücreleri ile yapılan testte ise üç saatlik süre boyunca canlı hücre sayısının 5.54 log kob/g değerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.34. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı (log kob/g) ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistem direncine ait I. ve II. tekerrür verileri

			<i>B. bifidum</i> sayısı					Canlılık				
Yöntem	Kaplama	Materyal	Örnekleme Zamanı (dk.)					Örnekleme Zamanı (dk.)				
			0.	60.	90.	120.	180.	0.	60.	90.	120.	180.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	6.67	6.28	6.01	5.88	5.48	100	94.08	90.12	88.03	82.07
			6.70	6.13	6.12	6.00	6.02	100	91.60	91.40	89.60	89.92
	Çift	GS/P	4.04	3.85	3.53	3.51	3.40	100	95.14	87.38	86.90	84.08
			4.24	3.70	3.40	3.74	3.45	100	87.18	80.08	88.06	81.42
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.76	7.54	6.91	6.81	5.30	100	97.20	89.09	87.79	68.31
			7.61	7.01	6.74	6.77	5.34	100	92.04	88.46	88.87	70.16
	Çift	P/GS	4.00	3.08	2.70	2.30	2.30	100	76.98	67.47	57.53	57.53
			4.11	2.78	2.85	2.48	2.48	100	67.53	69.16	60.21	60.21
Serbest hücreler			6.01	5.86	5.77	5.72	4.32	100	97.48	95.97	95.27	71.76
			6.05	5.94	5.84	5.71	4.22	100	98.14	96.50	94.49	69.85

Çizelge 4.35. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığının *in vitro* bağırsak sistemine direncine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>B. bifidum</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.04	0.36	1	1358.77	60.38**
Kaplama	1	99.67	886.20**	1	1150.56	51.12**
Materyal	1	5.10	45.33**	1	601.35	26.72**
Süre	4	2.18	19.35**	3	250.92	11.15**
Hata	32			25		

** p<0.01

Çizelge 4.36. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* (log kob/g) sayısı ve canlılığının (%) *in vitro* bağırsak sistemine direncine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

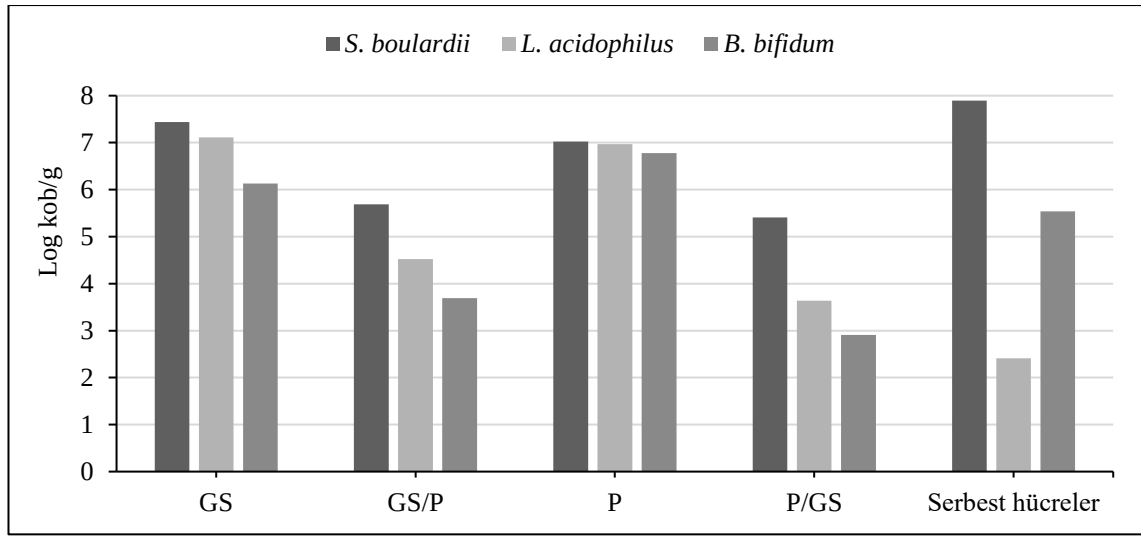
Yöntem	n	<i>B. bifidum</i> sayısı	n	Canlılık
Püskürterek Kurutma	20	4.91 ^a ± 0.29	16	87.94 ^a ± 1.08
Püskürterek Dondurma	20	4.84 ^a ± 0.47	16	74.91 ^b ± 3.41
Kaplama				
Tek	20	6.45 ^a ± 0.16	16	87.42 ^a ± 1.95
Çift	20	3.30 ^b ± 0.14	16	75.43 ^b ± 3.14
Materyal				
GS	10	6.13 ^b ± 0.11	8	89.60 ^a ± 1.25
GS/P	10	3.69 ^c ± 0.09	8	86.28 ^a ± 1.64
P	10	6.78 ^a ± 0.27	8	85.24 ^a ± 3.66
P/GS	10	2.91 ^d ± 0.21	8	64.58 ^b ± 2.43
Süre (dk.)				
0.	8	5.64 ^a ± 0.60	-	-
60.	8	5.05 ^b ± 0.67	8	87.72 ^a ± 3.64
90.	8	4.78 ^{bc} ± 0.64	8	82.89 ^{ba} ± 3.40
120.	8	4.69 ^c ± 0.67	8	80.87 ^b ± 4.82
180.	8	4.22 ^d ± 0.52	8	74.21 ^c ± 4.19

4.5.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin *in vitro* bağırsak sistemi testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler

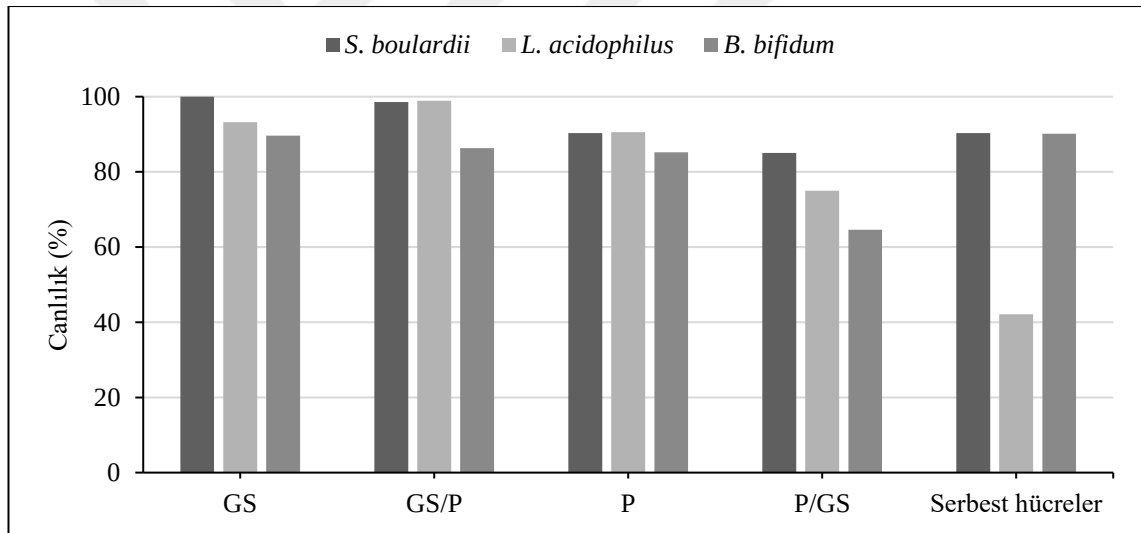
In vitro bağırsak testi sonuçlarına göre mikrokapsüle edilmiş *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizmalarının kaplama materyali bazında ki sayısı ve canlılığındaki değişime ait veriler Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Ayrıca 3 saatlik test süresi boyunca hem mikrokapsül halindeki hem de serbest formdaki probiyotik mikroorganizmaların zamana göre sayısı ve canlılıklarında ki değişime ait elde edilen bulgular Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de verilmiştir.

Yapılan *in vitro* bağırsak sistemi testi verilerine göre mikrokapsül örneklerinin *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayıları GS mikrokapsülünde daha yüksek olarak tespit edilirken, *B. bifidum* sayısı ise P mikrokapsülünde daha yüksek seviyede belirlenmiştir. Hidrofobik kaplama materyali mide sisteminde daha iyi koruma sağlarken bağırsak ortamında ise hidrofilik kaplama materyalinin daha yüksek koruma sağladığı belirlenmiştir. Bu sonucun nedeni ise palm yağı kullanılarak üretilen mikrokapsüllerin deney şartlarında kullanılan lipazlarca parçalanması ve çekirdekte bulunan probiyotik mikroorganizma hücrelerinin ortamın ekstrem şartlarına daha fazla maruz kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

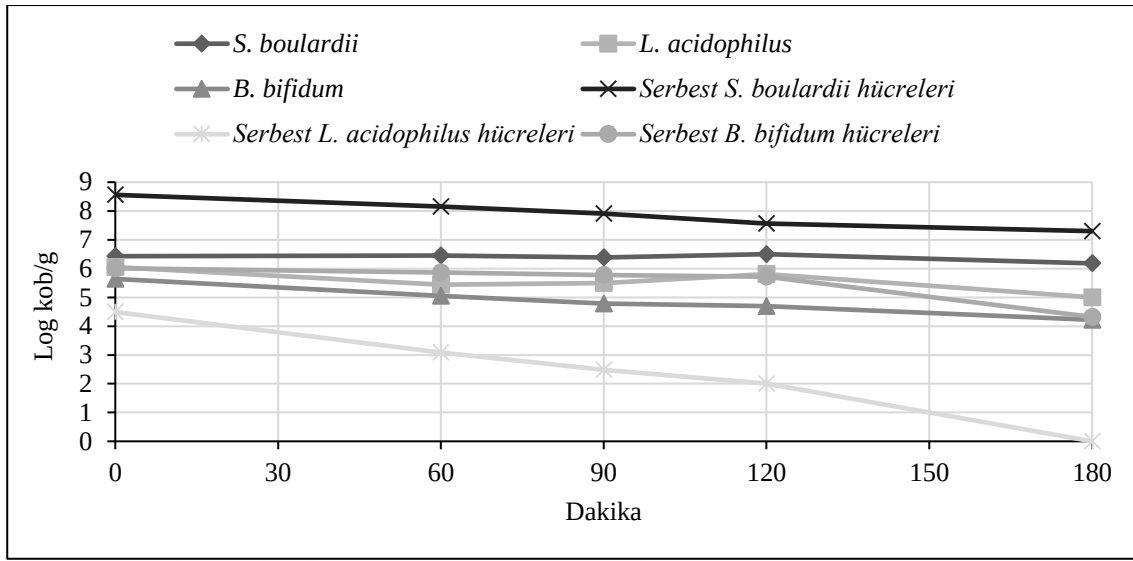
Tüm bunlara ek olarak serbest formdaki *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücreleri *in vitro* bağırsak ortamı şartlarında kısmen canlılığını koruyabilmiş ancak *L. acidophilus* hücreleri ise 180 dk test süresi sonuna kadar canlılıklarını koruyamamıştır.



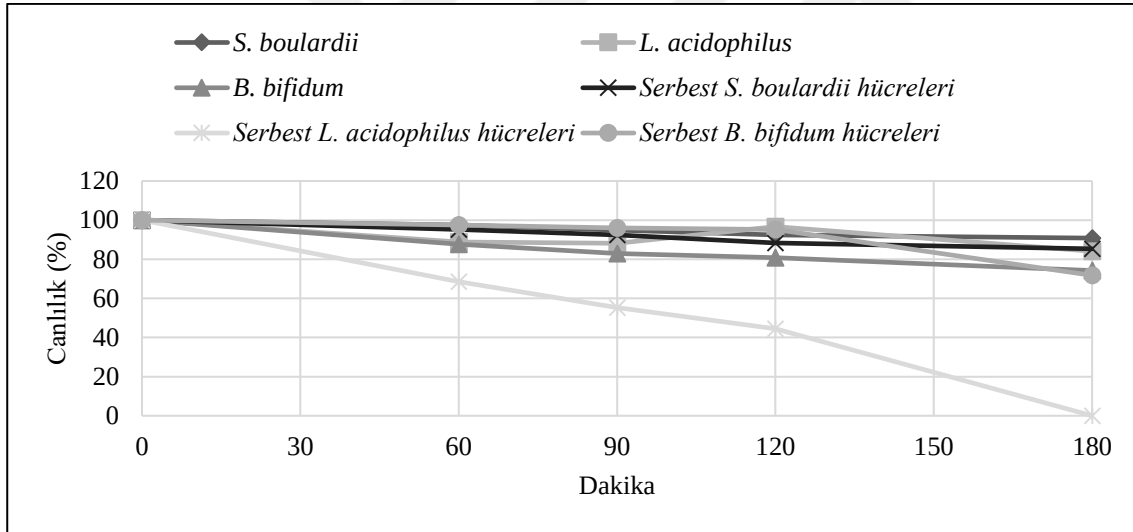
Şekil 4.9. Mikrokapsüllerin *in vitro* bağırsak sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları



Şekil 4.10. Mikrokapsüllerin *in vitro* bağırsak sistemi testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları



Şekil 4.11. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının *in vitro* bağırsak sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi



Şekil 4.12. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının *in vitro* bağırsak sistemi testinde zamana bağlı olarak değişimi

4.6. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Isıl Stabilizasyonu

4.6.1. *S. boulardii* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* içeriğinin ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.37'de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.38'de ve önemli

bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.39'da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre ısı stabilizasyon testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve inkübasyon sıcaklığının mikrokapsüllerin *S. bouldarii* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikrokapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre tek katlı mikrokapsüllerin *S. bouldarii* sayısı ve canlılığı çift katlı mikrokapsüllere göre daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni ise tek ve çift katlı mikrokapsüllerin başlangıcındaki hücre yoğunluğu farkıdır. Ayrıca tahmin edildiği üzere artan sıcaklıklarda *S. bouldarii* sayısı ve canlılığında azalış meydana getirmiştir.

Mikrokapsülasyon yöntemi, mikrokapsüllerin ısı stabilizasyonu üzerine etkili olmamıştır. Her iki yöntemde artan inkübasyon sıcaklıklarında ortalama olarak yaklaşık %64 oranında *S. bouldarii* hücreleri canlı kalabilmiştir.

Mikrokapsüle edilmemiş serbest *S. bouldarii* hücreleri ile yapılan ısı stabilizasyon testi sonucunda 50°C'deki bekletme sonucunda hücre sayısı ve canlılığı sırasıyla 6.05 log kob/g ve %72.8 olarak tespit edilmiştir. Ancak artan inkübasyon sıcaklıklarında *S. bouldarii* canlılığı tespit edilememiştir.

Çizelge 4.37. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri

			<i>S. bouldarii</i> sayısı				Canlılık			
Yöntem	Kaplama	Örnek	İnkübasyon sıcaklığı (°C)				İnkübasyon sıcaklığı (°C)			
			50	60	70	80	50	60	70	80
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.75	7.58	3.84	3.96	98.76	96.57	48.89	50.47
			7.71	7.62	3.86	3.92	96.68	95.56	48.41	49.09
	Çift	GS/P	4.89	4.95	3.54	te	78.68	79.68	57.00	te
			5.29	4.95	3.85	te	84.72	79.36	61.69	te
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.85	7.82	3.69	3.66	95.03	94.75	44.75	44.37
			8.01	7.64	3.48	3.62	98.29	93.76	42.68	44.41
	Çift	P/GS	5.59	5.54	3.13	2.56	87.27	86.54	48.86	40.03
			5.51	5.36	3.20	te	89.14	86.81	51.77	te
Serbest hücreler			5.81	te	te	te	69.91	te	te	te
			6.29	te	te	te	75.69	te	te	te

te: Tespit edilemedi.

Çizelge 4.38. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>S. bouldardii</i>			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.27	0.46	1	16.39	0.12
Kaplama	1	35.38	60.13**	1	1390.22	10.27**
Materyal	1	0.47	0.80*	1	178.98	1.32*
Sıcaklık	3	37.23	63.26**	3	7468.56	55.15**
Hata	25			25		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.39. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>S. bouldardii</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	16	5.75 ^a ± 0.52	16	71.40 ^a ± 6.42
Çift	16	3.64 ^b ± 0.51	16	58.22 ^b ± 8.19
Materyal				
GS	8	5.78 ^a ± 0.71	8	73.05 ^a ± 9.02
GS/P	8	3.43 ^b ± 0.78	8	55.14 ^b ± 9.73
P	8	5.72 ^a ± 0.80	8	69.75 ^a ± 12.50
P/GS	8	3.86 ^b ± 0.71	8	61.30 ^{ba} ± 11.33
İnkübasyon sıcaklığı (°C)				
50	8	6.57 ^a ± 0.48	8	91.07 ^a ± 2.57
60	8	6.43 ^a ± 0.47	8	89.13 ^a ± 2.49
70	8	3.57 ^b ± 0.10	8	50.51 ^b ± 2.21
80	8	2.21 ^c ± 0.67	8	28.55 ^c ± 8.43

4.6.2. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.40'ta, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.41'de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.42'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre ısı stabilizasyon testinde; kaplama, taşıyıcı materyal çeşidi ve sıcaklığın mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$; $p < 0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikrokapsülasyon yönteminin önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre *L. acidophilus* hücreleri üzerinde sıcaklığa karşı en yüksek korumayı çift katlı mikrokapsüller sağlamıştır. Artan test sıcaklıklarında çift katlı mikrokapsüller %72.65 oranında canlılık sağlarken tek katlı mikrokapsüller ise %66.77 canlılık sağlamıştır. Diğer taraftan ise tek katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı çift katlı olanlara göre daha fazladır. Bunun nedeni ise mikrokapsülasyon işleminin başlangıcındaki hücre yoğunluklarının farklı olmasıdır.

Çizelge 4.40. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>L. acidophilus</i> sayısı				Canlılık			
			İnkübasyon sıcaklığı (°C)				İnkübasyon sıcaklığı (°C)			
			50	60	70	80	50	60	70	80
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.18	6.88	4.74	3.19	91.66	87.78	55.08	40.79
			7.01	6.98	4.85	3.36	88.81	88.47	56.40	42.60
	Çift	GS/P	5.31	5.28	4.83	3.81	87.22	86.72	76.07	62.50
			5.19	5.09	3.85	3.61	85.53	83.91	56.46	59.54
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.66	6.97	3.86	3.28	96.00	87.33	40.92	41.08
			7.61	7.00	3.76	3.08	92.56	85.18	36.26	37.47
	Çift	P/GS	5.83	5.41	3.68	3.08	96.56	89.75	56.56	51.04
			5.74	5.27	3.48	2.85	92.27	84.72	47.89	45.70
Serbest hücreler			te	te	te	te	te	te	te	te
			te	te	te	te	te	te	te	te

Çizelge 4.41. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>L. acidophilus</i>			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.21	0.60	1	145.56	2.72
Kaplama	1	7.12	20.13**	1	276.42	5.17*
Materyal	1	0.01	0.04*	1	0.05	0.00*
Sıcaklık	3	18.70	52.83**	3	4049.96	75.80**
Hata	25			25		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.42. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	16	5.46 ^a ± 0.46	16	66.77 ^b ± 6.10
Çift	16	4.52 ^b ± 0.25	16	72.65 ^a ± 4.43
Materyal				
GS	8	5.52 ^a ± 0.60	8	68.95 ^{ba} ± 7.89
GS/P	8	4.62 ^b ± 0.26	8	74.74 ^a ± 4.66
P	8	5.40 ^a ± 0.73	8	64.60 ^b ± 9.78
P/GS	8	4.43 ^b ± 0.45	8	70.56 ^{ba} ± 7.82
İnkübasyon sıcaklığı (°C)				
50	8	6.44 ^a ± 0.36	8	91.33 ^a ± 1.39
60	8	6.11 ^a ± 0.32	8	86.73 ^a ± 0.71
70	8	4.13 ^b ± 0.20	8	53.20 ^b ± 4.28
80	8	3.28 ^c ± 0.11	8	47.59 ^b ± 3.26

Materyal bazında bakıldığında ise P mikrokapsülünün sıcaklık toleransının canlılık değerlerinin diğer mikrokapsül örneklerine oranla daha az olduğu görülmektedir. Çünkü kullanılan hidrofobik materyalin erime noktası uygulanan inkübasyon sıcaklıklarından daha düşüktür. Ayrıca diğer bir hidrofobik taşıyıcı materyal ile üretilen P/GS mikrokapsülünün kısmen daha yüksek canlılık sağlamasının ise çekirdek materyalin Arap zımkı/β-siklodekstrin karışımından oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Artan inkübasyon sıcaklığı ile birlikte *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının da azaldığı görülmektedir. Uygulanan en yüksek sıcaklıkta (>70°C) mikrokapsüllerin *L. acidophilus* içeriğinin yaklaşık olarak yarısının kaybedildiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada mikrokapsüle *L. paracasei* hücrelerinin 65°C'de 30 dk bekletme süresi sonunda yaklaşık 2.65 log azaldığı tespit edilmiştir (İlha vd 2015). Probiyotik mikroorganizmaların sıcaklık toleransı türler arasında oldukça farklılık göstermektedir (Rokka ve Rantamaki 2010). Yapılan bir başka çalışmada da hem mikrokapsüle hem de serbest *L. reuteri* hücrelerinin 80°C'de 3 dk bekletme sonunda canlılıklarını tamamen kaybettiği bildirilmiştir (Malmo vd 2013). Bu açıdan bakıldığında ısı stabilizasyon testi sonucunda 80°C'de 30 dk bekletme ile mikrokapsül formundaki *L. acidophilus* hücreleri

yaklaşık olarak yarıya yakını canlılıklarını korumaktadır. Elektro-püskürtme ve akışkan yatak kurutucu kullanılarak çok tabakalı olarak mikroenkapsüle edilen *L. acidophilus* hücrelerinin 70°C’de yapılan ısı stabilizasyon testlerine göre, taşıyıcı materyalde bulunan stearik asit oranının artışı ile canlılığında %80 değerinden %94 değerine çıktığı bildirilmiştir (Pitigrisorn vd 2017).

4.6.3. *B. bifidum* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* içeriğinin ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.43’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.44’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.45’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre ısı stabilizasyon testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve sıcaklığın mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon yöntemi, taşıyıcı materyal çeşidi ve sıcaklığın *B. bifidum* canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak kaplama çeşidinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsül örnekleri püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlere göre *B. bifidum* canlılığını daha çok desteklemiştir.

Materyal bazında bakıldığında ise en yüksek canlılık, %79.22 değeri ile GS mikrokapsülünde elde edilmiştir. En düşük canlılık oranı ise daha önceki verilen *L. acidophilus* hücreleri ile benzer şekilde P mikrokapsülünde belirlenmiştir. Bu durumun nedeni ise mikrokapsül üretiminde kullanılan hidrofobik materyalin erime sıcaklığının uygulanan inkübasyon sıcaklıklarında daha düşük olmasıdır.

Artan inkübasyon sıcaklığıyla birlikte mikrokapsüllerin içerdiği *B. bifidum* sayısı, 6.37 log kob/g değerinden 3.33 log kob/g değerine düşmüştür. 80°C sıcaklıkta inkübasyon sonunda hücrelerin yarısından fazlası kaybedilmiştir.

Çizelge 4.43. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>B. bifidum</i> sayısı				Canlılık			
			İnkübasyon sıcaklığı (°C)				İnkübasyon sıcaklığı (°C)			
			50	60	70	80	50	60	70	80
Püskürterek kurutma	Tek	GS	8.03	7.59	4.42	3.79	106.13	100.39	58.42	50.07
			7.98	7.66	4.85	3.66	105.35	101.08	63.97	48.34
	Çift	GS/P	4.97	5.17	4.89	4.64	79.42	82.69	78.15	74.20
			4.46	5.03	4.74	3.38	73.07	82.28	77.62	55.35
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.64	7.11	5.05	3.43	93.12	86.71	61.54	41.82
			7.78	7.03	4.75	2.74	93.66	84.57	57.20	32.99
	Çift	P/GS	4.60	5.37	3.51	2.74	76.28	89.04	58.21	45.42
			5.48	5.20	3.22	2.30	91.42	86.86	53.70	38.41
Serbest hücreler			5.79	te	te	te	54.21	te	te	te
			5.74	te	te	te	53.74	te	te	te

Çizelge 4.44. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının ve canlılığının ısı stabilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>B. bifidum</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	1.67	2.67	1	662.30	6.68*
Kaplama	1	17.72	28.28**	1	58.43	0.59
Materyal	1	0.18	0.29*	1	10.93	0.11*
Sıcaklık	3	17.44	27.84**	3	3311.68	33.39**
Hata	25			25		

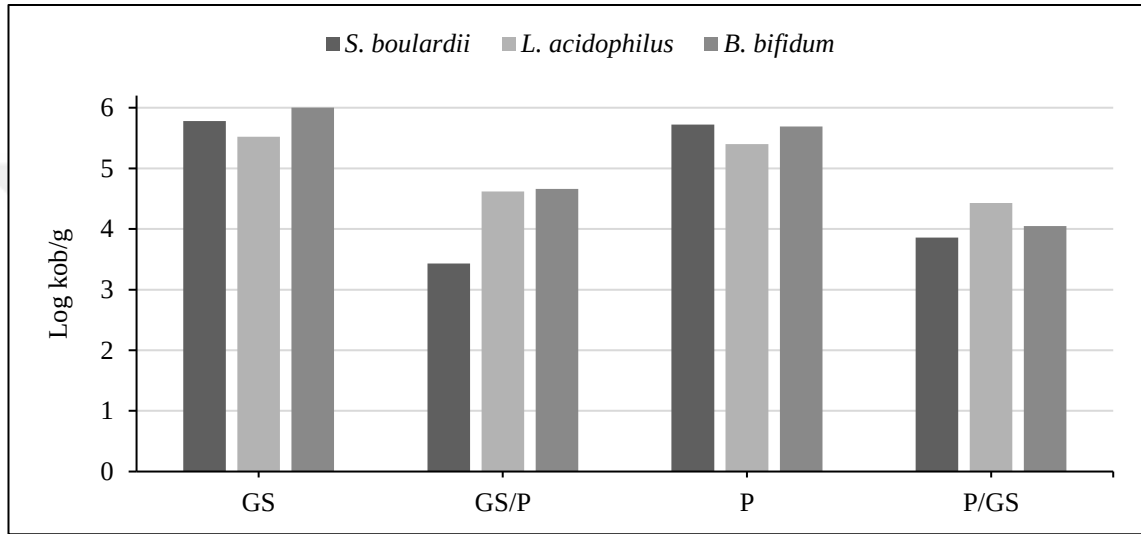
* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.45. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) ısı stabilizasyonuna ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

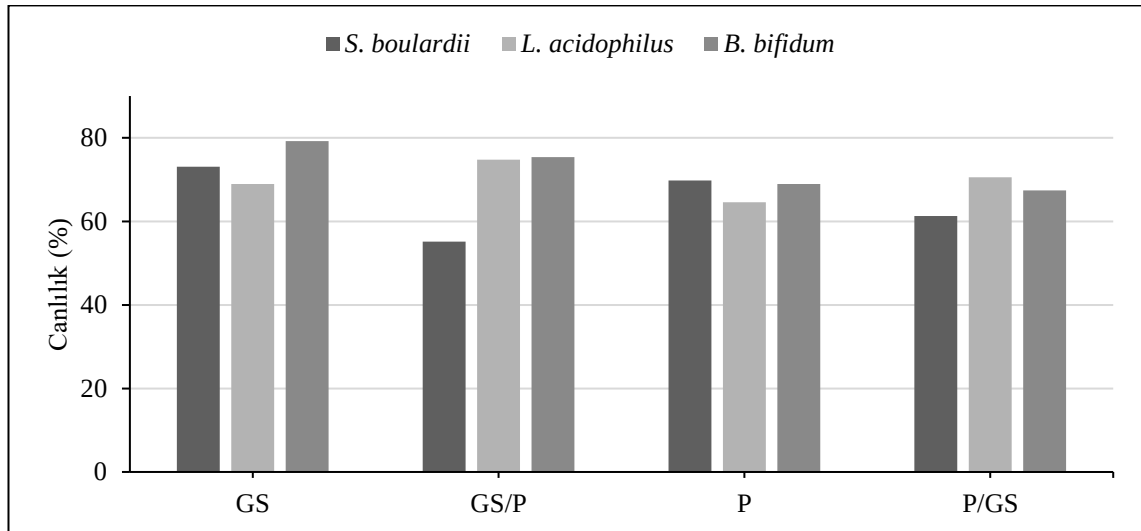
Yöntem	n	<i>B. bifidum</i> sayısı	n	Canlılık
Püskürterek Kurutma	16	5.33 ^a ± 0.39	16	77.28 ^a ± 4.74
Püskürterek Dondurma	16	4.87 ^a ± 0.45	16	68.18 ^b ± 5.43
Kaplama				
Tek	16	5.84 ^a ± 0.48	16	74.08 ^a ± 6.19
Çift	16	4.36 ^b ± 0.25	16	71.38 ^a ± 4.02
Materyal				
GS	8	6.00 ^a ± 0.70	8	79.22 ^a ± 9.26
GS/P	8	4.66 ^b ± 0.20	8	75.35 ^{ba} ± 3.10
P	8	5.69 ^a ± 0.70	8	68.95 ^{ba} ± 8.43
P/GS	8	4.05 ^b ± 0.45	8	67.42 ^b ± 7.44
İnkübasyon sıcaklığı (°C)				
50	8	6.37 ^a ± 0.57	8	89.81 ^a ± 4.45
60	8	6.27 ^a ± 0.42	8	89.20 ^a ± 2.64
70	8	4.43 ^b ± 0.24	8	63.60 ^b ± 3.29
80	8	3.33 ^b ± 0.26	8	48.32 ^c ± 4.44

4.6.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucunda probiyotik mikroorganizma içeriğinde meydana gelen değişimler

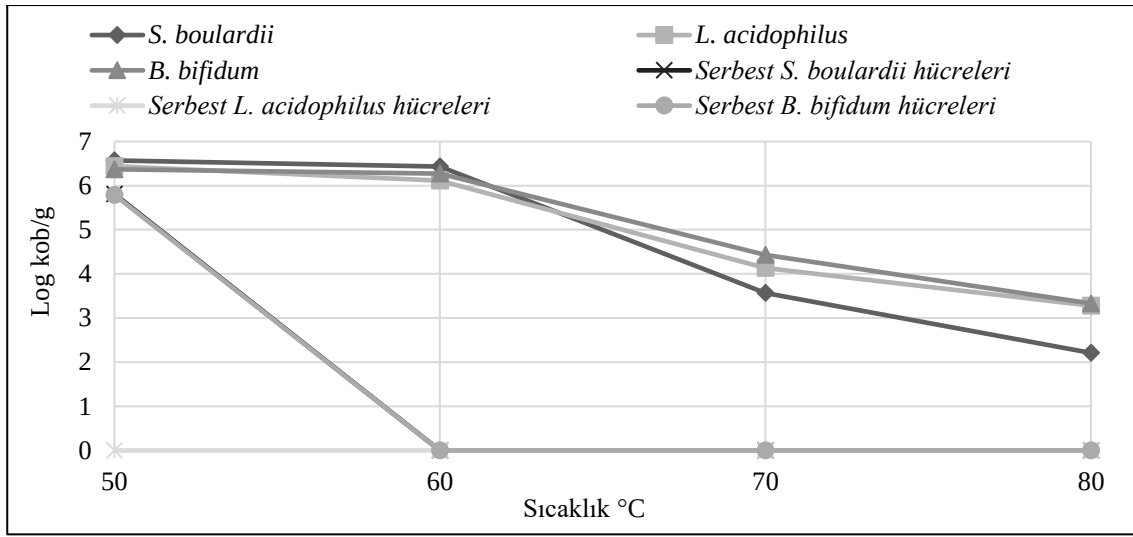
Isıl stabilizasyon testi sonuçlarına göre mikrokapsüle edilmiş *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizmalarının kaplama materyali bazında ki sayısı ve canlılığındaki değişime ait veriler Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Ayrıca hem mikrokapsül halindeki hem de serbest formdaki probiyotik mikroorganizmaların test sıcaklığına göre sayısı ve canlılıklarında ki değişime ait elde edilen bulgular Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’da verilmiştir.



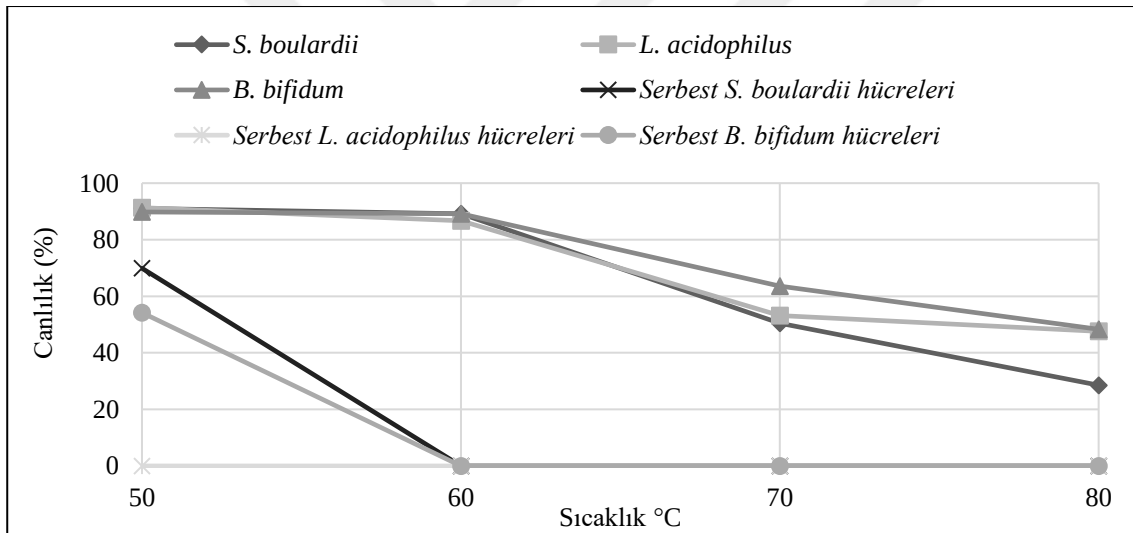
Şekil 4.13. Mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları



Şekil 4.14. Mikrokapsüllerin ısı stabilizasyon testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları



Şekil 4.15. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre sayısının ısı stabilizasyon testinde inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak değişimi



Şekil 4.16. Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının ısı stabilizasyon testinde inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak değişimi

Yapılan ısı stabilizasyon testi verilerine göre, GS mikrokapsülü mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizmalarına daha yüksek seviyede bir sıcaklık toleransı kazandırmıştır. Bu durumun inkübasyon sıcaklıklarında GS mikrokapsüllerinin erimeyerek bütünlüklerini korumasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir.

Serbest formdaki hücreler ile yapılan ısı stabilizasyon testi sonucunda *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücreleri yalnızca 50°C'de 30 dk bekletme sonunda canlılık gösterebilmiş ve artan diğer sıcaklıklarda ise hiçbir canlı hücre tespit edilememiştir. Buna ek olarak serbest formdaki *L. acidophilus* hücreleri ise hiçbir inkübasyon sıcaklığında belirlenememiştir. Üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma

canlılığı; 50, 60, 70 ve 80°C inkübasyon sıcaklığında 30 dk bekletme sonunda yaklaşık %50 oranında korunabilmiştir.

Bu sonuçlardan anlaşılabileceği üzere uygulanan mikroenkapsülasyon işlemi, mikroorganizmaların dışında bir bariyer oluşturarak yalnızca sindirim ortamının ekstrem koşullarında değil ayrıca dış ortamın sıcaklığına karşıda da bir koruyucu görevi üstlenmektedir.

4.7. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Depolama Stabilitesi

4.7.1. *S. bouldardii* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* içeriğinin +4°C’de yapılan depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.46’da bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.47’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.48’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre depolama stabilitesi testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve depolama süresinin mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kaplama ve taşıyıcı materyal çeşidi *S. bouldardii* canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin ve sürenin ise önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre; tek katlı kaplama tekniği mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısı üzerine daha yüksek koruyucu bir etkide bulunmuştur. 45 günlük depolama süresi sonunda mikrokapsüllerin, 6.42 log kob/g canlı *S. bouldardii* hücresi içerdiği ve bu sayının 0.6 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir. Gallo vd (2014) tarafından yapılan bir çalışmada *S. bouldardii* ekstrüzyon yöntemi kullanılarak mikroenkapsüle edilmiş ve buzdolabı sıcaklığında 77 gün boyunca depolanmıştır. Depolama sonunda mikrokapsüllerin *S. bouldardii* başlangıç seviyesini koruduğu ve bu değerin 7.88 log kob/g olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.46. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>S. bouldardii</i> sayısı				Canlılık			
			Depolama süresi (gün)				Depolama süresi (gün)			
			0.	10.	30.	45.	0.	10.	30.	45.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.84	7.44	7.50	7.41	100	94.86	95.67	94.43
			8.08	7.48	7.02	7.59	100	92.55	86.85	93.90
	Çift	GS/P	6.70	5.70	5.69	5.68	100	85.07	85.01	84.78
			6.30	5.60	5.66	5.54	100	88.91	89.80	87.97
Püskürterek dondurma	Tek	P	8.00	8.00	7.26	7.08	100	100.00	90.81	88.49
			8.04	8.10	7.56	7.89	100	100.69	94.03	98.12
	Çift	P/GS	6.85	6.31	5.09	5.04	100	91.93	80.86	81.67
			6.84	6.30	5.91	5.15	100	92.05	93.73	80.01

Çizelge 4.47. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>S. bouldardii</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.15	1.09	1	6.60	0.37
Kaplama	1	24.39	178.48**	1	327.15	18.45**
Materyal	1	0.03	0.19*	1	9.59	0.54*
Süre	3	3.60	8.79**	2	47.07	2.65
Hata	25			18		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.48. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. bouldardii* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>S. bouldardii</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	16	7.64 ^a ± 0.09	12	94.20 ^a ± 1.21
Çift	16	5.90 ^b ± 0.15	12	86.82 ^b ± 1.33
Materyal				
GS	8	7.55 ^a ± 0.11	6	93.04 ^a ± 1.31
GS/P	8	5.86 ^b ± 0.14	6	95.36 ^a ± 0.91
P	8	7.74 ^a ± 0.15	6	86.92 ^b ± 2.06
P/GS	8	5.94 ^b ± 0.27	6	86.71 ^b ± 2.64
Süre (Gün)				
0.	8	7.17 ^a ± 0.31		
10.	8	7.00 ^a ± 0.34	8	93.26 ^a ± 1.86
30.	8	6.46 ^b ± 0.34	8	89.60 ^a ± 1.79
45.	8	6.42 ^b ± 0.42	8	88.67 ^a ± 1.27

4.7.2. *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının +4°C’de yapılan depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.49’da, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.50’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.51’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre depolama stabilitesi testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve depolama süresinin mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre, tek katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı sırasıyla 6.60 log kob/g ve %85.44 olarak tespit edilirken çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı ve canlılığı ise sırasıyla 4.45 log kob/g ve %69.27 olarak tespit edilmiştir. Çift katlı mikroenkapsüllerin nem seviyesinin tek katlı olanlara göre daha yüksek olması da materyal etkileşimlerinden dolayı kurutmanın etkin yapılamadığını ve bu nedenle depolama sırasında daha az stabil mikrokapsüllerin elde edildiğini göstermektedir.

L. acidophilus hücrelerinin depolama stabilitesi değerleri kaplama materyal çeşidi bazında incelendiğinde, hidrofobik karakterdeki P mikrokapsülünün diğer materyaller ile kıyaslandığında daha yüksek koruma sağladığı görülmektedir. Hidrofobik kaplama materyallerinin kullanımı, depolama sırasında oksijen ve nem geçirgenliğini azalttığından çekirdek materyal üzerinde daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu değerlendirilmiştir. Ek olarak ise lipit fazı içerisinde tutuklanmış olan probiyotik hücreler latent fazda kaldığından canlılık kaybının az olduğu da rapor edilmektedir (Bampi vd 2016). Ayrıca üretilen mikrokapsüllerin depolama stabilitesi açısından nem içeriğinin %5’in altında olması önerilmektedir (Peighambardoust vd 2011). P mikrokapsülünün nem içeriğinin bu kritik değerin altında olması da koruyucu etkisi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Depolama süresi boyunca mikrokapsül örneklerinin *L. acidophilus* sayısı 6.59 log kob/g seviyesinden 4.70 log kob/g seviyesine düşmüştür. Buzdolabı şartlarında depolanan mikrokapsül örnekleri 45 gün sonunda bile başlangıç canlılıklarının %70’ini korumakta olup bu değer oldukça yüksektir. Benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir. Püskürterek dondurma yöntemi ile mikroenkapsüle edilen *L. acidophilus* hücrelerinin 120 günlük depolama süresi sonunda yalnızca 2 log azalış gösterdiği belirtilmiştir (Bampi vd 2016). Yapılan bir püskürterek dondurma çalışmasında üretilen mikrokapsüllerin, başlangıç değeri 8.38 log kob/g olan *L. acidophilus* hücrelerin 7°C’de 30 gün depolanma sonunda 5.02 log kob/g ve 120 günlük depolama sonunda 3.08 log kob/g değerine düştüğü belirlenmiştir (Okuro vd 2013b). Diğer bir çalışmada ise enkapsüle *L. acidophilus* hücrelerinin 7°C depolanmasında 60. gün sonunda 8.2 log kob/g değerinden 3.7 log kob/g değerine düştüğü bildirilmiştir (Pedroso vd 2013).

Çizelge 4.49. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	<i>L. acidophilus</i> sayısı				Canlılık			
			Depolama süresi (gün)				Depolama süresi (gün)			
			0.	10.	30.	45.	0.	10.	30.	45.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	7.30	6.53	5.97	5.41	100	89.46	81.75	74.17
			7.48	6.45	5.95	5.68	100	86.23	79.63	75.98
	Çift	GS/P	6.04	5.18	4.15	4.18	100	85.68	68.68	69.12
			5.95	4.48	4.63	4.06	100	75.19	77.72	68.26
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.57	7.51	5.92	5.73	100	99.22	78.21	75.72
			7.32	7.53	6.81	6.53	100	102.86	92.95	89.13
	Çift	P/GS	5.60	4.30	3.45	3.41	100	76.78	61.53	60.84
			5.48	4.00	3.66	2.60	100	73.03	66.87	47.51

Çizelge 4.50. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>L. acidophilus</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.13	1.03	1	2.17	0.08
Kaplama	1	37.24	300.11**	1	1569.78	55.68**
Materyal	1	3.33	26.82**	1	494.68	17.55**
Süre	3	5.54	44.68**	2	522.16	16.52**
Hata	25			18		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.51. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kaplama	n	<i>L. acidophilus</i> sayısı		n	Canlılık	
Tek	16	6.60 ^a	± 0.19	12	85.44 ^a	± 2.74
Çift	16	4.45 ^b	± 0.24	12	69.27 ^b	± 2.83
Materyal						
GS	8	6.35 ^b	± 0.26	6	81.20 ^b	± 2.40
GS/P	8	4.83 ^c	± 0.28	6	74.11 ^c	± 2.81
P	8	6.86 ^a	± 0.26	6	89.68 ^a	± 4.48
P/GS	8	4.06 ^d	± 0.37	6	64.43 ^d	± 4.24
Süre (Gün)						
0.	8	6.59 ^a	± 0.32			
10.	8	5.75 ^b	± 0.51	8	86.06 ^a	± 3.88
30.	8	5.07 ^c	± 0.44	8	75.92 ^b	± 3.50
45.	8	4.70 ^d	± 0.47	8	70.09 ^c	± 4.32

4.7.3. *B. bifidum* sayısı ve canlılığı

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* içeriğinin +4°C’de yapılan depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.52’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.53’te ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.54’te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre depolama stabilitesi testinde; kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve depolama süresinin mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p < 0.01$; $p < 0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p > 0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi’ne göre, tek katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı sırasıyla 5.49 log kob/g ve %71.23 olarak tespit edilirken çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısı ve canlılığı ise sırasıyla 4.31 log kob/g ve %59.16 olarak tespit edilmiştir. Tek katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* üzerinde daha fazla koruyuculuğa sahip olmasının nedeni ise *L. acidophilus* hücrelerinin depolama stabilitesi testinde ortaya çıkan benzer nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yine aynı benzer nedenler nedeniyle P mikrokapsülü de *B. bifidum* hücreleri üzerinde daha fazla koruyucu etki sağlamıştır. Lipit matriks hidrofobik özelliklerinden dolayı hidrojen bağı yapma kapasitesini düşürebilmekte ve böylece kapsül içerisindeki hücrelerin H⁺ iyonu ile temasını keserek depolama stresine karşı koruyucu bir etki sağlayabilmektedir.

Depolama süresi boyunca mikrokapsül örneklerinin *B. bifidum* sayısı 6.60 log kob/g seviyesinden 4.10 log kob/g seviyesine düşmüştür. Buzdolabı şartlarında depolanan mikrokapsül örnekleri 45 gün sonunda bile başlangıç canlılıklarının %61’ini korumakta olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada püskürterek dondurma yöntemi ile mikroenkapsüle edilen *B. animalis* hücrelerinin 120 günlük depolama süresi boyunca sayısının 10.4 log kob/g’den 5.8 log kob/g’a düştüğü bildirilmiştir (Bampi vd 2016).

Çizelge 4.52. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait I. ve II. tekerrür verileri

			<i>B. bifidum</i> sayısı				Canlılık			
Yöntem	Kaplama Materyal		Depolama süresi (gün)				Depolama süresi (gün)			
			0.	10.	30.	45.	0.	10.	30.	45.
Püskürterek kurutma	Tek	GS	6.48	4.00	4.24	3.65	100	61.76	65.39	65.39
			7.08	4.47	5.05	5.51	100	63.14	71.38	71.38
	Çift	GS/P	6.18	5.18	3.40	3.31	100	83.81	55.02	55.02
			6.30	4.48	3.55	3.61	100	71.05	56.34	56.34
Püskürterek dondurma	Tek	P	7.65	6.25	4.92	4.47	100	81.61	64.34	64.34
			6.78	6.34	5.10	5.81	100	93.57	75.27	75.27
	Çift	P/GS	6.18	4.18	3.15	2.95	100	67.62	50.94	50.94
			6.20	4.00	2.85	3.51	100	64.47	45.86	45.86

Çizelge 4.53. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının ve canlılığının depolama stabilitesine ait varyans analiz sonuçları

VK	<i>B. bifidum</i> sayısı			Canlılık		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	0.46	1.54	1	15.29	0.19
Kaplama	1	11.03	36.60**	1	868.81	10.52**
Materyal	1	3.03	10.04**	1	476.51	5.77*
Süre	3	34.41	38.04**	2	402.79	4.88*
Hata	25			18		

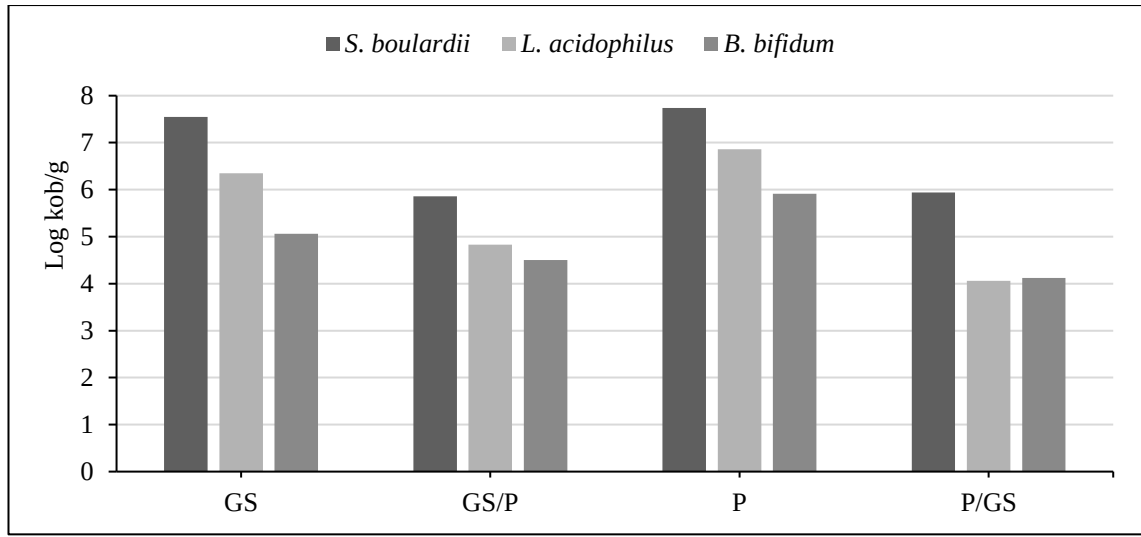
* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.54. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *B. bifidum* sayısının (log kob/g) ve canlılığının (%) depolama stabilitesine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

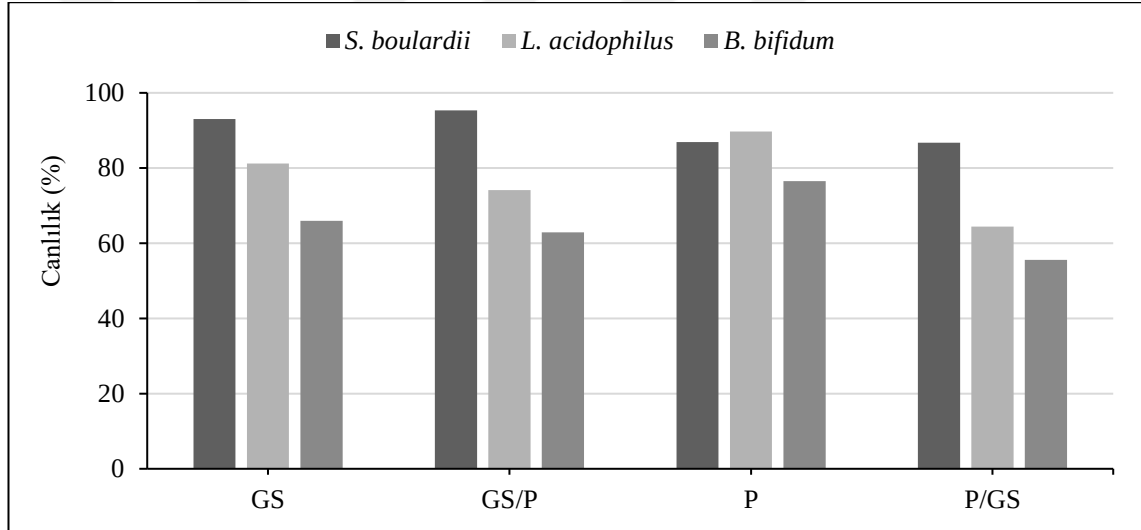
Kaplama	n	<i>B. bifidum</i> sayısı	n	Canlılık
Tek	16	5.49 ^a ± 0.30	12	71.23 ^a ± 3.37
Çift	16	4.31 ^b ± 0.32	12	59.16 ^b ± 3.12
Materyal				
GS	8	5.06 ^b ± 0.43	6	65.97 ^{ba} ± 3.09
GS/P	8	4.50 ^{bc} ± 0.44	6	62.85 ^b ± 4.92
P	8	5.91 ^a ± 0.37	6	76.48 ^a ± 5.41
P/GS	8	4.12 ^c ± 0.48	6	55.54 ^b ± 3.66
Süre (Gün)				
0.	8	6.60 ^a ± 0.19		
10.	8	4.86 ^b ± 0.34	8	73.38 ^a ± 4.10
30.	8	4.03 ^c ± 0.32	8	60.57 ^b ± 3.61
45.	8	4.10 ^c ± 0.37	8	61.69 ^b ± 4.59

4.7.4. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin depolama stabilizasyonu

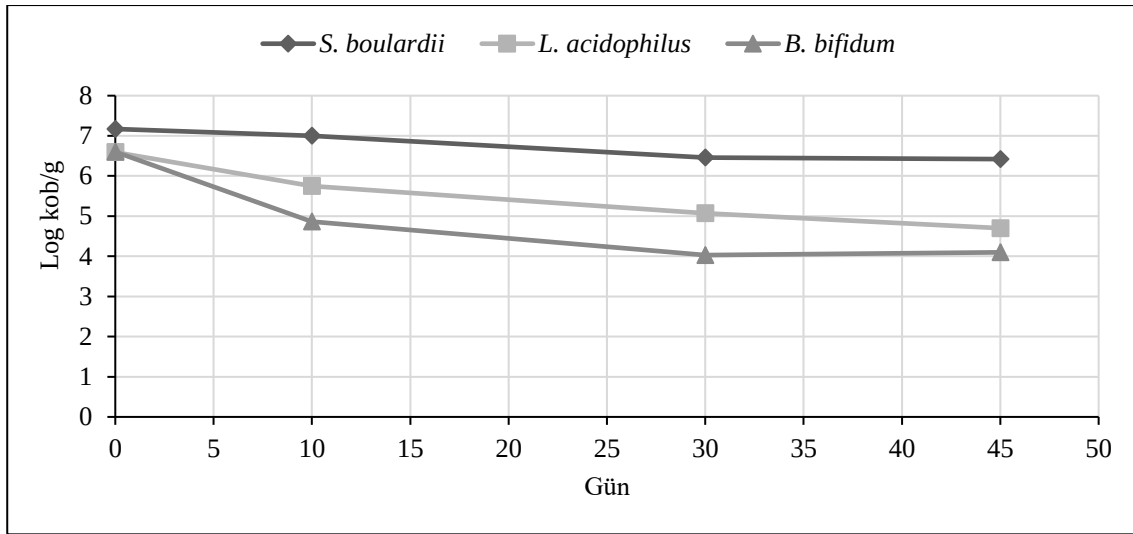
Depolama stabilitesi testi sonuçlarına göre mikroenkapsüle edilmiş *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* mikroorganizmalarının kaplama materyali bazında ki sayısı ve canlılığındaki değişime ait veriler Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de verilmiştir. 45 günlük depolama süresi boyunca mikroenkapsüle edilmiş probiyotik mikroorganizmaların sayısı ve canlılıklarında ki değişime ait elde edilen veriler ise Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de verilmiştir.



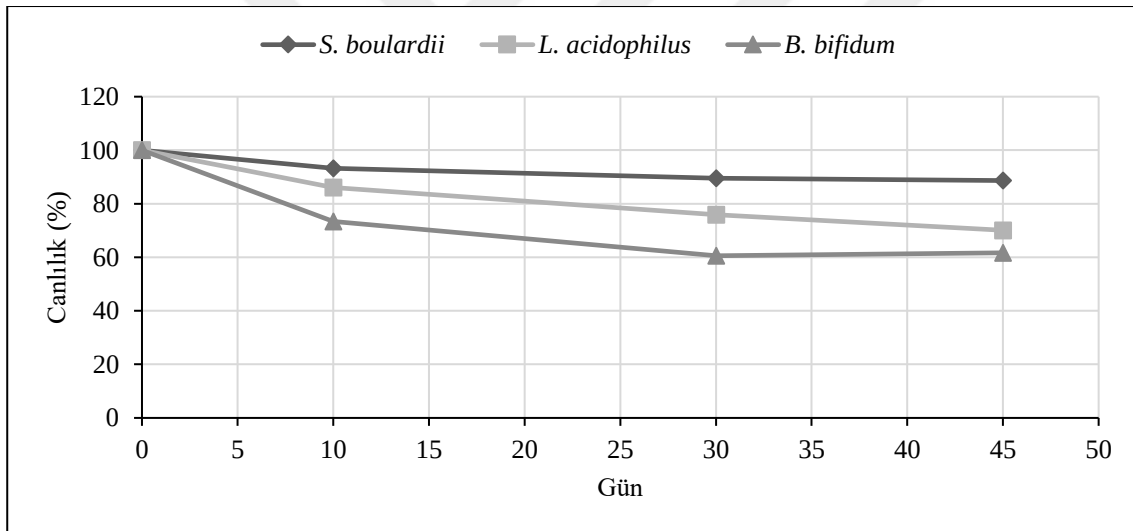
Şekil 4.17. Mikrokapsüllerin depolama stabilite testi sonucu probiyotik mikroorganizma sayıları



Şekil 4.18. Mikrokapsüllerin depolama stabilite testi sonucu probiyotik mikroorganizma canlılıkları



Şekil 4.19. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma hücre sayısının depolama süresine bağlı olarak değişimi



Şekil 4.20. Mikroenkapsüle probiyotik mikroorganizma hücre canlılığının depolama süresine bağlı olarak değişimi

Buzdolabı şartlarında gerçekleştirilen depolama stabilitesi testi sonuçlarına göre *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı ve canlılığı en yüksek olarak hidrofobik karakterdeki P mikrokapsülünde sağlanmıştır. Hidrofobik kaplama materyallerinin kullanımı depolama sırasında oksijen ve nem geçirgenliğini azalttığından çekirdek materyal üzerinde daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu değerlendirilmiştir. Buna ek olarak tek katlı mikrokapsül örneklerinin çift katlı mikrokapsüllere oranda daha fazla stabilite sağlamanın nedeninin ise mikrokapsülasyon aşamasında daha etkin bir kaplama yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.8. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikro kapsüllerin Nem İçeriği ve Su Aktivitesi

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikro kapsüllerin su aktivitesi (a_w) ve nem içeriğine (%) ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.55'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.56'da ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.57'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre mikroenkapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi ve taşıyıcı materyal mikro kapsüllerin nem içeriği üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon yöntemi ve taşıyıcı materyal çeşidi mikro kapsüllerin su aktivitesi değeri üzerine önemli ($p<0.01$) bir etkide bulunurken, kaplama çeşidinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikro kapsüllerin nem içeriği püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlere oranla daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu sonucun nedeni ise kullanılan hidrofobik materyalin su bağlama yeteneğinin düşük ancak Arap zıncının ise yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Taşıyıcı materyallerin hidrofilik ve hidrofobik karakterli olması elde edilen mikro kapsüllerin su aktivitesi ve nem içeriğini etkilediği bildirilmiştir (Avila-Reyes vd 2014). Benzer olarak yapılan bir çalışmada *B. longum* ve *B. infantis* hücreleri farklı taşıyıcılar kullanılarak farklı sıcaklıklarda mikroenkapsüle edilmiştir. Bu çalışmada en yüksek nem değeri Arap zıncı kullanılarak üretilen mikro kapsüllerde elde edilmiş olup bu değerlerin %8.61-10.31 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Lian vd 2002). Başka bir çalışmada ise püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen *Bifidobacterium* mikro kapsüllerinin nem içeriğinin ve su aktivitesi değerinin %7.51 ve 0.35 olduğu bildirilmiştir (Chavez ve Ledebor 2007).

Üretilen mikro kapsüllerde iyi bir depolama stabilitesi için su aktivitesi değerinin 0.15-0.30 arasında ve nem içeriğinin ise %5'in altında olması gerektiği bildirilmiştir (Avila-Reyes vd 2014). Ancak bu değerlerin sağlanması için püskürterek kurutma sırasında uygulanan giriş ve çıkış sıcaklıklarının artırılması gerekmektedir. Sıcaklık artışı ile birlikte ise probiyotik mikroorganizmaların canlılık seviyesinde düşüş meydana gelmektedir. Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada çıkış sıcaklığının 70°C'den 120°C'ye yükselmesi ile mikro kapsüllerin nem değerinin %1-2 arasına düşürüldüğü ancak *L. paracasei* hücrelerinin canlılık değerinde de çok ciddi bir düşüş yaşandığı bildirilmiştir (Gardiner vd 2000).

Tek katlı mikro kapsüllerin nem içeriği %6.51 seviyesinde tespit edilirken çift katlı mikro kapsüllerin nem seviyesi ise %8.90 olarak tespit edilmiştir.

Materyal bazında bakıldığında ise GS/P mikro kapsülünün nem seviyesi diğer mikro kapsül örneklerine göre oldukça yüksektir. Daha öncede bahsedildiği üzere Arap zıncı ve β -siklodekstrin kimyasal potansiyeli gereği su bağlama özelliği yüksek karbonhidratlardır. Bu nedenle nem seviyesi püskürterek kurutma yöntemiyle üretilen örneklerde daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ayrıca GS/P örneği, GS örneği ile kıyaslandığında daha düşük bir giriş sıcaklığında (80°C) kurutulmuştur. Düşük

sıcaklıklarda üretilen mikrokapsül örneklerinin evaporasyon oranının daha düşük olması nedeniyle nem seviyesinin daha yüksek olduğu değerlendirilmiştir. Tüm bunlara ek olarak çift katlı mikrokapsül üretiminde emülsiyon içerisinde yer alan hidrofobik mikrokapsül fazı etkin bir kurutmanın gerçekleştirilmesini engellemiş olabileceği düşünülmektedir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin su aktivitesi değeri 0.53, püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlerin ise 0.83 olarak belirlenmiştir. Materyal bazında incelendiğinde ise GS mikrokapsülünün su aktivitesi 0.40 ile en düşük değeri ve P mikrokapsülünün su aktivitesi değeri ise 0.88 ile en yüksek değeri almıştır. Hidrofobik kaplama materyalinde daha yüksek su aktivitesi elde edilmesinin nedeni ise hidrofobik fazın su bağlama özelliğinin düşük olması nedeniyle serbest suyu daha kolay ortama verebilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Böylece mikrokapsülde bulunan su kolayca ortama geçebilmekte ve buhar basıncını artırabilmektedir.

Çizelge 4.55. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği (%) ve su aktivitesi (aw) ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	Nem içeriği	Su aktivitesi
Püskürterek kurutma	Tek	GS	8.66	0.43
			8.33	0.38
	Çift	GS/P	14.98	0.74
			12.03	0.57
Püskürterek dondurma	Tek	P	4.74	0.86
			4.32	0.90
	Çift	P/GS	4.12	0.81
			4.46	0.43

Çizelge 4.56. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği (%) ve su aktivitesi (aw) ait varyans analiz sonuçları

VK	Nem içeriği			Su aktivitesi		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	86.87	76.39**	1	0.18	43.15**
Kaplama	1	11.39	10.02*	1	0.01	2.92
Materyal	1	13.77	12.11*	1	0.06	13.87**
Hata	4			4		

Çizelge 4.57. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin nem içeriği (%) ve su aktivitesine (aw) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yöntem	Nem içeriği	Su aktivitesi
Püskürterek Kurutma	11.00 ^a ± 1.57	0.53 ^b ± 0.08
Püskürterek Dondurma	4.41 ^b ± 0.13	0.83 ^a ± 0.03
Kaplama		
Tek	6.51 ^b ± 1.15	0.64 ^a ± 0.14
Çift	8.90 ^a ± 2.73	0.72 ^a ± 0.05
Materyal		
GS	8.50 ^b ± 0.16	0.40 ^c ± 0.02
GS/P	13.51 ^a ± 1.47	0.65 ^b ± 0.08
P	4.53 ^c ± 0.21	0.88 ^a ± 0.02
P/GS	4.30 ^c ± 0.17	0.79 ^{ba} ± 0.03

4.9. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Mikroenkapsülasyon Verimi ve Yığın Yoğunluğu

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi (%) ve yığın yoğunluğuna (g/mL) ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.58’de ve bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.59’da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre mikroenkapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi ve taşıyıcı materyalin mikrokapsüllerin mikroenkapsülasyon verimi (%) ve yığın yoğunluğu (g/mL) üzerine önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Mikrokapsüllerin verimi ve yığın yoğunluğu değerleri arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiş olmakla birlikte bu değerler ortalama olarak sırasıyla %48 ve 0.44 (g/mL) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek katlı mikrokapsüllerin verimi diğerlerine oranla nispeten daha yüksektir. Püskürterek dondurma işlemi sırasında sıcaklık uygulanmaması elde edilen ürünün verimini arttırmaktadır. Okuro vd (2013a) püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin veriminin %81-96 arasında olduğunu tespit etmiştir. Başka bir çalışmada ise püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluğunun 0.78 g/mL olduğu belirlenmiştir (Sillick ve Gregson 2012).

Çizelge 4.58. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi (%) ve yığın yoğunluğuna (g/mL) ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	Mikrokapsülasyon Verimi	Yığın Yoğunluğu
Püskürterek kurutma	Tek	GS	48.20	0.41
			33.23	0.45
	Çift	GS/P	52.20	0.51
			33.08	0.49
Püskürterek dondurma	Tek	P	62.67	0.38
			72.52	0.47
	Çift	P/GS	54.74	0.40
			36.43	0.44

Çizelge 4.59. Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikrokapsülasyon verimi ve yığın yoğunluğuna ait varyans analiz sonuçları

VK	Mikrokapsülasyon Verimi			Yığın Yoğunluğu		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	401.15	3.25	1	0.004	2.47
Kaplama	1	191.79	1.56	1	0.002	1.44
Materyal	1	274.60	2.23	1	0.003	1.92
Hata	4			4		

4.10. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Partikül Boyutu Değerleri

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine (μm) ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.60'da, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.61'de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.62'de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre mikrokapsülasyon yöntemi ve taşıyıcı materyalin, mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerleri üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak kaplama çeşidinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerleri (μm) püskürterek kurutma yöntemi ile üretilenlere göre oldukça yüksektir. Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri sırasıyla 24.06 ve 4.88 μm olarak tespit edilmiştir. Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri ise sırasıyla 612.54 ve 244.55 μm olarak belirlenmiştir. Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ağırlıklı partikül boyutu değerleri Pedrosa vd (2013) tarafından rapor edilenlerden oldukça büyüktür. Başka bir çalışmada ise püskürterek dondurma

yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin ortalama büyüklüğü 58-278 μm arasında değişmektedir (Okuro 2013a). Literatür ile karşılaştırıldığında ortaya çıkan bu farklılığın nedeni ise püskürterek kurutma işleminde daha homojen bir üretim yapılabilmesi ancak püskürterek dondurma yönteminde ise kurutma işleminin daha çok kurutma çemberinde gerçekleşmesi ve ürün toplama siklonuna iletilmemesidir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin partikül boyutu değeri ise literatür ile uyumlu şekilde tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada Arap zankı ve β -siklodekstrin kullanılarak püskürterek kurutma sisteminde *L. acidophilus* hücreleri mikrokapsüle edilmiştir. Üretilen mikrokapsüllerin partikül boyutunun 2.88-120.23 μm arasında değiştiği bildirilmiştir (Zhao vd 2008).

Çizelge 4.60. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine (μm) ait I. ve II. tekerrür verileri

Yöntem	Kaplama	Materyal	Hacim Ağırlıklı Partikül Boyutu	Yüzey Ağırlıklı Partikül Boyutu
Püskürterek kurutma	Tek	GS	10.30	3.69
			9.15	3.48
	Çift	GS/P	36.40	6.02
			40.38	6.34
Püskürterek dondurma	Tek	P	545.94	185.69
			549.94	126.60
	Çift	P/GS	616.29	274.19
			738.00	391.71

Çizelge 4.61. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine (μm) ait varyans analiz sonuçları

VK	Hacim Ağırlıklı Partikül Boyutu			Yüzey Ağırlıklı Partikül Boyutu		
	SD	KO	F Değeri	SD	KO	F Değeri
Yöntem	1	692629	373.22**	1	114878	53.11**
Kaplama	1	12461	6.71	1	16092	7.44
Materyal	1	5054	2.72*	1	15174	7.02*
Hata	4			4		

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Çizelge 4.62. Püskürterek kurutma ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerine (μm) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Yöntem	Hacim Ağırlıklı	Yüzey Ağırlıklı
Püskürterek Kurutma	24.06 ^b $\pm$ 8.32	4.88 ^b $\pm$ 0.75
Püskürterek Dondurma	612.54 ^a $\pm$ 44.82	244.55 ^a $\pm$ 57.67
Kaplama		
Tek	278.8 ^a $\pm$ 155.37	79.87 ^a $\pm$ 45.6
Çift	357.7 ^a $\pm$ 186.06	169.6 ^a $\pm$ 97.3
Materyal		
GS	9.73 ^c $\pm$ 0.58	3.59 ^c $\pm$ 0.11
GS/P	38.39 ^c $\pm$ 2.00	6.18 ^c $\pm$ 0.16
P	547.9 ^b $\pm$ 1.99	156.1 ^b $\pm$ 29.5
P/GS	677.1 ^a $\pm$ 60.68	332.9 ^a $\pm$ 58.8

Probiyotik mikroorganizma hücrelerinin boyutu göz önüne alındığında üretilen mikrokapsüllerin 350 μm 'den küçük olmasının yeterli olduğu (Robitaille vd 2000) ancak son üründe zayıf çözünürlük özelliğinden dolayı tercih edilmediği bildirilmektedir (Zhao vd 2008). Ancak büyük çaplı partiküllerin, çekirdek materyali koruma oranının daha yüksek olduğu bilinmektedir (Zhao vd 2008). Hidrofobik kaplama materyali ile üretilen mikrokapsülün *in vitro* sindirim sisteminde daha yüksek koruma sağlamasının nedenlerinden biriside diğer mikrokapsüllere kıyaslandığında daha yüksek partikül boyutu değerlerine sahip olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

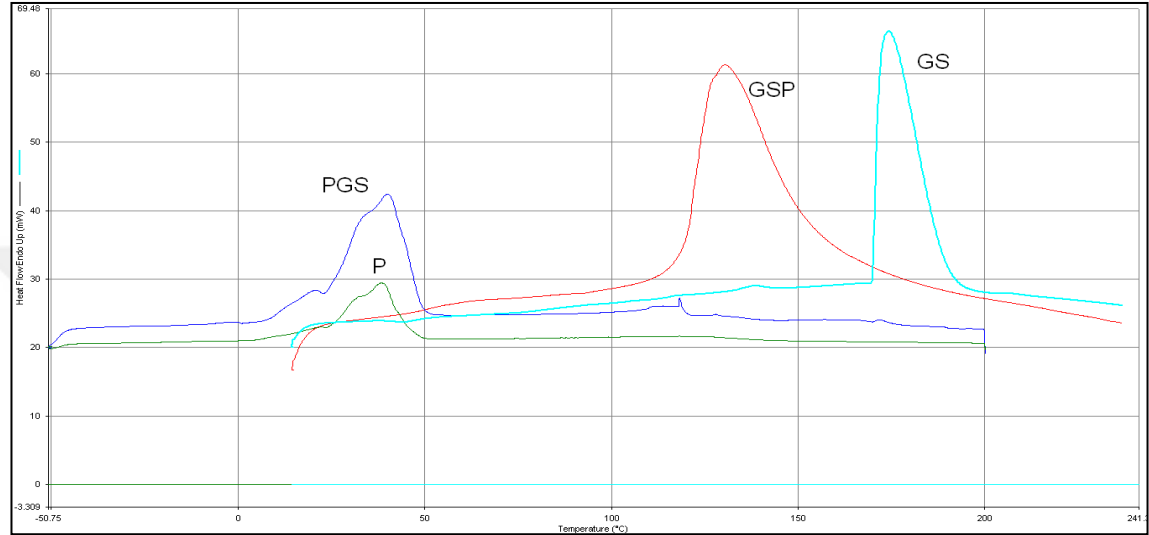
4.11. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Termal Özellikleri

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemi ile üretilen tek ve çift kaplamalı mikrokapsüllerin termal özellikleri Çizelge 4.63'te ve Şekil 4.21'de verilmiştir. GS mikrokapsülün erime sıcaklığı 174.34°C olarak tespit edilmiştir. Bu formülasyon kullanılarak üretilen çift kaplamalı GS/P mikrokapsülünün erime sıcaklığı ise yapıda hidrofobik faz bulunması nedeni ile düşerek 130.64°C olarak ölçülmüştür.

Beklenildiği üzere hidrofobik kaplama materyalleri kullanılarak üretilen tek ve çift kaplamalı mikrokapsüllerin erime sıcaklıkları diğer mikrokapsül örneklerine göre oldukça düşük düzeyde kalmıştır. Taşıyıcı materyali hidrojenize palm yağı olan tek kaplamalı mikrokapsül örneğinin (P) erime sıcaklığı 38.43°C olarak tespit edilirken, bu taşıyıcı materyal kullanılarak üretilen çift kaplamalı mikrokapsülünün erime sıcaklığı ise bir miktar artarak 40.12°C olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeni ise mikrokapsül formülasyonuna giren Arap zakkının erime sıcaklığını yükseltmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bir püskürterek dondurma çalışmasında, mikrokapsüllerin erime sıcaklığı ise ortalama 47.5°C olarak tespit edilmiştir (Okuro 2013b). Tüm bunlara ek olarak ise tüm mikrokapsüllerin endotermik erime sıcaklığına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.63. Mikrokapsüllerin termal özellikleri

Materyal	Başlangıç sıcaklığı (°C)	Erime sıcaklığı (°C)	Bitiş sıcaklığı (°C)	ΔH (J/g)
GS	169.67	174.23	190.46	515.22
GS/P	117.46	130.48	160.95	476.01
P	21.16	38.46	45.97	427.04
P/GS	20.03	40.03	51.20	523.96



Şekil 4.21. Mikrokapsüllerin DSC grafiği

4.12. Püskürterek Kurutma ve Dondurma Yöntemi ile Üretilen Tek ve Çift Katlı Mikrokapsüllerin Morfolojik Özellikleri

Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleriyle üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin mikroskop ve SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'te verilmiştir.

Mikrokapsüllerin mikroskop görüntüleri incelendiğinde, püskürterek dondurma yöntemi kullanılarak üretilen örneklerin daha büyük ve şekilsiz bir görünüme sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin daha küçük ve küresel bir görünüme sahip olduğu gözlenmektedir.

Mikrokapsüllerin SEM görüntüleri incelendiğinde ise, püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen örneklerin yuvarlak mikrokapsül formunda ve püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlerin ise standart bir şekilde olmadığı görülmüştür. Hidrofobik kaplama materyali ile üretilen P ve P/GS mikrokapsülleri tam olarak birbirinden ayrılamamış olup homojen bir görünüm sağlayamamıştır. Bu sonucun nedeni ise püskürterek dondurma yönteminde hidrofobik materyalin donması kendi halinde gerçekleşmekte ve ısı transferi yavaş olmaktadır. Bu nedenle hızlı bir mikrokapsülasyon işlemi gerçekleşmemekte ve arzu edilen oval mikrokapsül şekli sağlanamamaktadır. Ayrıca yöntem sırasında hidrofobik materyalin donması için aspirasyon hızı düşük olarak tutulduğundan örnekler toplama kabından çok kurutma

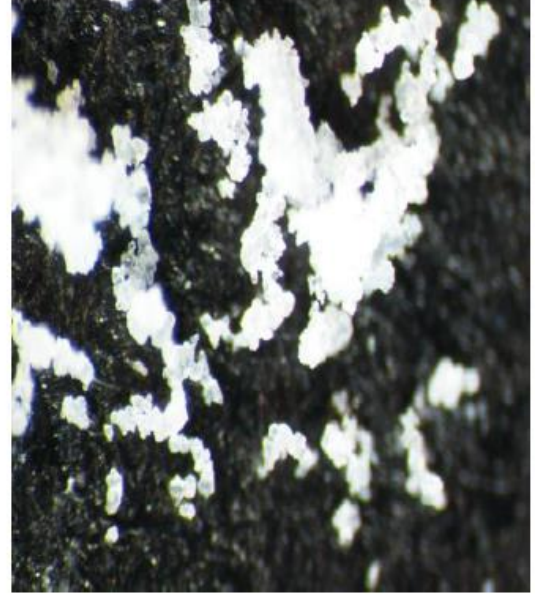
emberinde asılı kalmaktadır. Buda tam olarak homojen Őekillerin elde edilmemesinin bir başka nedeni olarak değerlendirilmektedir.

Pűskűrterek kurutma yűntemi ile űretilen mikrokapsűl űrnekleri yuvarlak bir Őekle ve pűrűzsűz bir yűzeyeye sahiptir. Ancak mikrokapsűllerde yer yer i bűkey űkűntűler meydana gelmiŐtir. İlha vd (2015) mikrokapsűllerde meydana gelen bu űkűntűlerin taŐıyıcı materyalin kuruma karakteristięinden kaynaklandıęını bildirmiŐtir. Ayrıca bu Őekillerin oluŐmasında ise yűntem sırasında kullanılan kurutma sıcaklıęı da neden olabilmektedir. Yűksek kurutma sıcaklıkları, hızlı kabuk oluŐumuna neden olmakta ve suyun yűzeyeye difűzyonunu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle kapsűl içerisinde potansiyel bir basınç oluŐmakta ve bu basınç partikűl yűzeyinde çatlaklara neden olmaktadır (Zhao vd 2008).

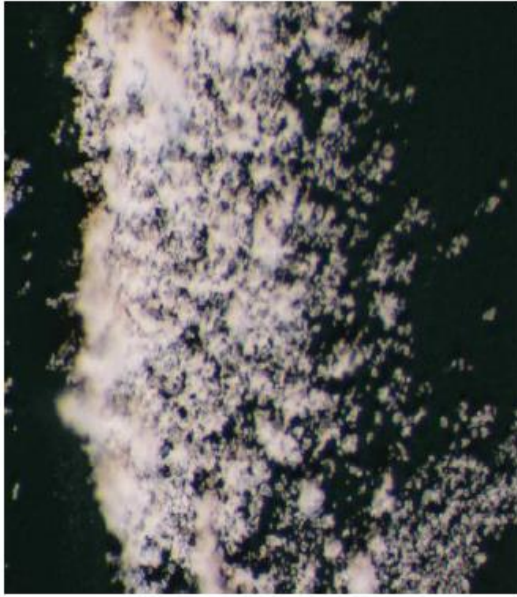
Pedroso vd (2012) *L. acidophilus* ve *B. bifidum* hűcrelerini pűskűrterek dondurma sisteminde mikroenkapsűle etmiŐ ve elde ettięi kapsűllerin yuvarlak formda olduęunu ancak duvarlarının Őekilsiz ve dűzensiz olduęunu gűzlenmiŐtir. Bunun nedeninin ise taŐıyıcının dűŐűk erime noktasına sahip olmasından kaynaklanabileceęi bildirilmiŐtir. Ayrıca pűskűrterek dondurma sonucu elde edilen partikűllerin mikroenkapsűlasyon sırasında evaporasyon oluŐmadıęından matriks tipinde olduęu da bildirilmiŐtir (Pedroso vd 2013).



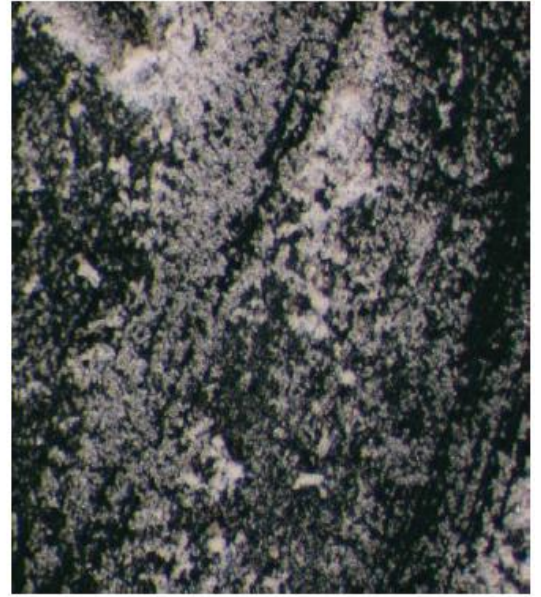
P



PGS

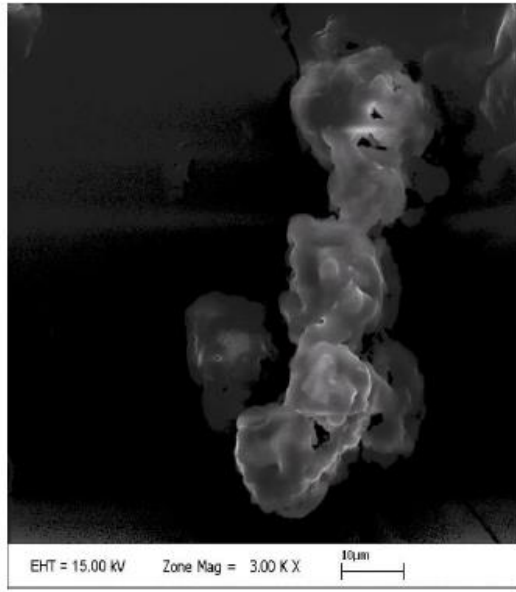


GS

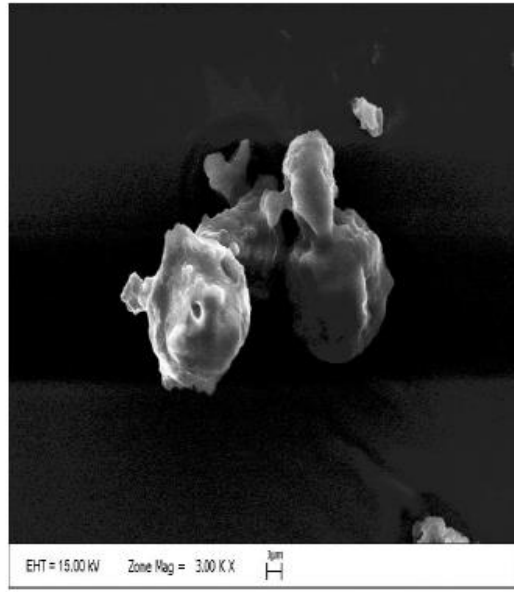


GSP

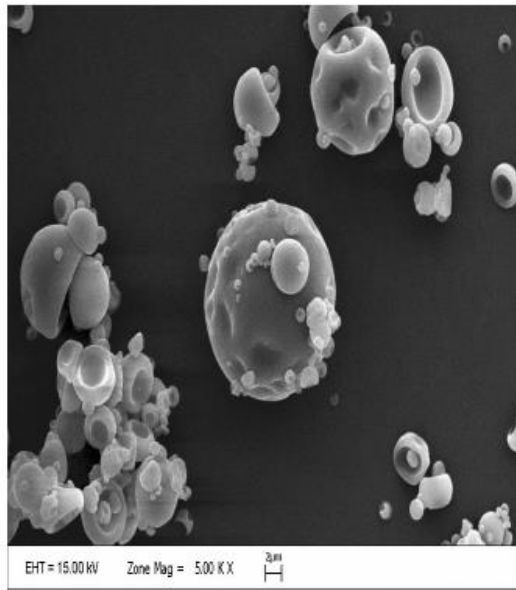
Şekil 4.22. Tek ve çift katlı mikroenkapsüllerin stereo mikroskop görüntüsü (X100)



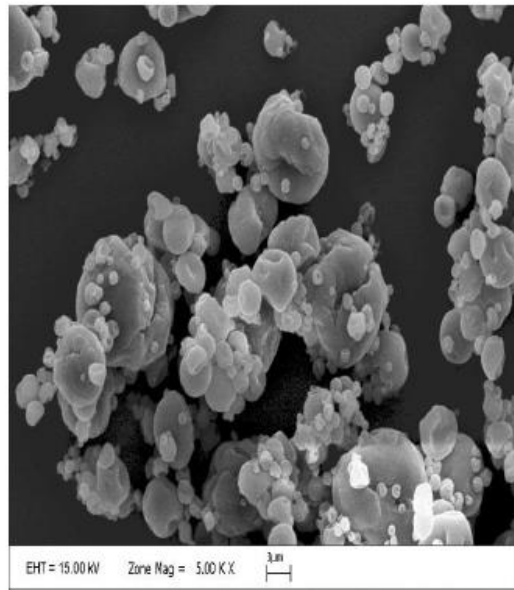
P



PGS



GS



GSP

Şekil 4.23. Tek ve çift katlı mikroenkapsüllerin SEM görüntüsü

4.13. Tek ve Çift Katlı Probiyotik Mikrokapsülleri İçeren Kek Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

4.13.1. Sade kek örneklerinin pişirme öncesi ve sonrası mikrobiyolojik özellikleri

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller kullanılarak üretilen sade kek örneklerinin pişirme öncesi ve sonrasındaki *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarına ait veriler Çizelge 4.64'te verilmiştir.

Sade kek örneklerinde, kek miksine pişirmeden önce ilave edilen mikrokapsül örneklerinden yalnızca P/GS çift katlı mikrokapsül örneğinde ortalama 2.92 log kob/g seviyesinde *S. boulardii* sayısı ve %67 canlılık tespit edilmiş olup diğer örneklerde canlılık tespit edilememiştir. Ayrıca serbest hücreler ile üretilen sade kek örneklerinde *S. boulardii* canlılığı tespit edilememiştir. Pişirme sırasında kek merkez sıcaklığı yaklaşık $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür. Bu sıcaklıkta çift katlı mikrokapsül örneğinin *S. boulardii* canlılığını koruyabilmesi yapısındaki hidrofobik ve hidrofilik materyallerin birbiriyle ve kek ortamındaki bileşenlerle etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mikrokapsülün dış katmanını oluşturan hidrofobik materyal erime halindeyken ısı absorbe etmekte ve bu nedenle mikrokapsülün merkezine daha az seviyede ısı transferi gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın hem serbest hem de mikroenkapsüle formda probiyotik mikroorganizmaların kek gibi fırın ürünlerinin hamurunda ilk kez kullanılması ve başarılı sonuçlar alınması yönüyle ayrıca önemli olduğu düşünülmektedir.

Kek miksine pişirmeden önce ilave edilen mikrokapsül örneklerinin hepsinde *L. acidophilus* canlılığı tespit edilmiştir. En yüksek hücre sayısı ve canlılığı ortalama olarak 2.91 log kob/g ve %70 ile çift katlı P/GS mikrokapsülünü içeren sade kek örneklerinde elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar *S. boulardii* sayımında elde edilen sonuçlar ile oldukça benzer olup çift katlı hidrofobik mikrokapsül örneğinin kek fazı içerisinde yüksek sıcaklıkta hücre canlılığını korumakta etkili olduğu bulgusunu güçlendirmiştir. Hidrofobik karakterdeki bileşenlerin sıcaklığa karşı bir koruma sağladığı bilinmektedir. Özellikle denatürasyon sıcaklığı yüksek proteinlerin hidrofobik karakterdeki amino asitleri daha fazla içerdiği bilinmektedir. Ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsüle edilen *L. rhamnosus* hücreleri bisküvi üretiminde denenmiştir. Pişirme sırasında bisküvilerin iç sıcaklığı 92°C olarak ölçülmüştür. Hamura 10^7 kob/g seviyesinde ilave edilen hücrelerin pişirildikten sonraki 24 saatlik sürede 10^5 kob/g seviyesine düştüğü ve 3 haftalık depolama süresi sonunda ise 10^2 kob/g seviyesinin altına indiği belirtilmiştir (Reid vd 2007). Yapılan bir çalışmada mikroenkapsüle *L. reuteri* hücreleri çikolata kek üretiminde hamura ilave edilmiş ve 180°C 'de 10 dakika pişirilmiştir. Pişirme sonunda iki farklı yöntemle mikroenkapsüle edilen hücrelerin %7 ve %10 oranında canlı kaldığı bildirilmiştir (Malmo vd 2013). Seyedain-Ardabili vd (2016) emülsiyon yöntemi ile mikroenkapsüle ettiği *L. acidophilus* ve *L. casei* hücrelerini hamburger ve tava ekmeği üretiminde kullanmıştır. Ekmeklerin 180°C 'de pişirilmesinden sonra başlangıç seviyesi 11 log kob/g olan *L. acidophilus* ve *L. casei* hücrelerinin hamburger ve tava ekmeğinde 3.2 ve 5.4 log kob/g ve 0.83 ve 1.55 log kob/g'a düştüğü belirlenmiştir. Rajam vd (2014) dondurarak kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle ettiği *L. plantarum* hücrelerini erişte üretiminde kullanmıştır. Eriştelerin 28°C ve 55°C 'de kurutulmasından sonra %80.29 ve %64.74 canlılık sağlanmasına rağmen 3.5 dakikalık pişirme sonunda hiç canlılık kalmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.64. Mikrokapsül kullanılan sade kek örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayısının (log kob/g) pişirme öncesi ve sonrası değişimi

Yöntem	Kaplama	Materyal	S. boulardii			L. acidophilus			B. bifidum		
			N ₀	N _t	Canlılık %	N ₀	N _t	Canlılık %	N ₀	N _t	Canlılık %
Püskürtterek	Tek	GS	5.9 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	5.9 ± 0.1	2.5 ± 0.3	42.4 ^b ± 3.8	5.6 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0
kurutma	Çift	GS/P	4.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	4.1 ± 0.1	1.9 ± 0.3	46.3 ^b ± 5.1	4.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0
Püskürtterek	Tek	P	6.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	6.1 ± 0.2	2.4 ± 0.5	39.3 ^b ± 4.6	6.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0
dondurma	Çift	P/GS	4.3 ± 0.1	2.9 ± 0.1	67.4 ^a ± 2.4	4.1 ± 0.1	2.9 ± 0.3	70.7 ^a ± 6.4	4.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0
Kontrol			6.0 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	5.8 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	6.4 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0

N₀: Pişirmeden önceki mikroorganizma sayısıN_t: Pişirmeden sonraki mikroorganizma sayısıCanlılık: (N_t / N₀)x100

B. bifidum canlılığı, sade kek örneklerinde tespit edilememiştir. *B. bifidum* hücreleri *L. acidophilus* ve *S. boulardii* hücreleri ile karşılaştırıldığında sıcaklık hassasiyeti oldukça yüksektir. Ayrıca serbest hücreler ile üretilen sade kek örneklerinde de *B. bifidum* canlılığı tespit edilememiştir. Yapılan bir çalışmada ekmek içerisine 10^6 kob/g seviyesinde *B. lactis* kültürü ilave edilmiş ve ekmek örnekleri 165, 185 ve 205°C de 12 dakika pişirilmiştir. Pişirmenin başlamasından sonraki ilk 3 dakika içerisinde canlılık seviyesinde çok hızlı bir düşüş yaşandığı 12 dakika sonunda ise çok limitli bir sayıda canlı hücre kaldığı bildirilmiştir (Zhang vd 2014).

4.13.2. *S. boulardii* İçeriği ve canlılığı

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsülleri içeren keklerin depolama sırasında *S. boulardii* sayısı ve canlılık değişimine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.65'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.66'da ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.67'de verilmiştir. Ayrıca kek örneklerinin *S. boulardii* sayısının depolama süresi boyunca değişimi Şekil 4.24'te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerin *S. boulardii* sayısı üzerine taşıyıcı materyal çeşidinin ve depolama süresinin önemli ($p < 0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu kek örneklerinde en yüksek *S. boulardii* sayısı sırasıyla P ve GS örneklerinde tespit edilmiş olup bu değerler 5.5 ve 5.3 log kob/g seviyesindedir. GS/P ve P/GS çift katlı mikrokapsül örneklerini içeren kek örneklerinde ise *S. boulardii* canlılığının depolama süresi boyunca korunamadığı tespit edilmiştir. Serbest *S. boulardii* hücrelerini içeren çikolata kreması dolgulu kek örneklerinde ise hücrelerin depolama boyunca canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. Mikrokapsüllerde yapılan *in vitro* sindirim testlerinde serbest *S. boulardii* hücrelerinin oldukça dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan kek dolgusunda, *S. boulardii* hücrelerinin mikrokapsüle edilmeden serbest formuyla da kullanılabileceği anlaşılmaktadır.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre marmelat dolgulu kek örneklerinde en yüksek *S. boulardii* sayısı 6.14 log kob/g ile GS materyalinde elde edilmiştir. Bu seviye, ürünün probiyotik olarak kabul edilebilmesi için gerekli olan limitler içerisinde olmasına rağmen depolama süresi boyunca korunamamıştır. Her ne kadar GS mikrokapsülü daha yüksek *S. boulardii* canlılığı sağlasa da P mikrokapsülü hücreler üzerinde daha iyi koruyucu etki göstermiştir. Depolama boyunca GS mikrokapsülü içeren örneklerde canlılığın yaklaşık %57'si korunur iken bu oran P mikrokapsülü içeren örneklerde %91 düzeyinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan anlaşılabileceği üzere marmelat dolgulu kek örneklerinde hidrofobik kaplama materyalinin depolama sırasında hücrelerin canlılığını daha iyi desteklediği anlaşılmaktadır. GS/P ve PG/S çift katlı mikrokapsül örneklerini içeren kek örneklerinde ise *S. boulardii* canlılığının depolamanın 60. gününden sonra tespit edilemediği belirlenmiştir. Serbest *S. boulardii* hücrelerini içeren marmelat dolgulu kek örneklerinde ise hücrelerin depolama boyunca canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre çikolata kaplamalı kek örneklerinde en yüksek *S. bouldardii* sayısı sırasıyla GS ve P örneklerinde tespit edilmiş olup bu değerler 5.6 ve 5.9 log kob/g seviyesindedir. GS/P ve P/GS çift katlı mikrokapsül örneklerini içeren kek örneklerinde ise *S. bouldardii* hücrelerinin canlılığını depolamanın 60. gününden sonra koruyamadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.65. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde *S. bouldardii* sayısına (log kob/g) ait I. ve II. tekerrür verileri

Kek tipi	Materyal	Depolama Süresi (gün)			
		0	30	60	90
Sade	GS	te	te	te	te
		te	te	te	te
	GS/P	te	te	te	te
		te	te	te	te
	P	te	te	te	te
		te	te	te	te
	P/GS	2.90	te	te	te
		2.95	te	te	te
	Serbest hücre	te	te	te	te
		te	te	te	te
Çikolata kreması Dolgulu	GS	5.08	5.12	5.00	4.22
		5.45	4.93	4.90	3.36
	GS/P	2.70	2.56	te	te
		2.78	2.48	te	te
	P	5.48	5.16	5.15	4.66
		5.58	5.29	5.03	4.23
	P/GS	3.62	te	te	te
		3.54	te	te	te
	Serbest hücre	4.90	4.81	4.71	4.07
		5.04	4.98	4.65	4.07
Marmelat Dolgulu	GS	6.16	4.30	3.58	2.60
		6.12	3.95	3.91	2.70
	GS/P	2.70	2.60	te	te
		2.78	2.48	te	te
	P	5.04	5.06	4.99	4.42
		5.30	5.07	4.35	4.60
	P/GS	3.62	2.00	te	te
		3.54	2.60	te	te
	Serbest hücre	5.30	4.97	4.72	3.90
		4.95	4.66	4.54	4.21
Çikolata Kaplamalı	GS	5.88	5.09	4.97	3.11
		5.87	5.06	5.08	3.30
	GS/P	3.30	2.30	te	te
		2.30	2.30	te	te
	P	5.61	5.02	3.85	3.46
		5.53	5.03	4.05	3.65
	P/GS	3.68	3.20	te	te
		3.51	3.04	te	te
	Serbest hücre	4.95	4.39	4.28	3.52
		5.26	4.30	4.18	3.52

Çizelge 4.66. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde *S. boulardii* sayısına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları

	VK	0. gün			30. gün		60. gün		90. gün	
		SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Krema	Materyal	3	3.59	182**	12.10	1648**	16.81	5705**	11.43	99**
Dolgulu	Hata	4	0.02		0.03		0.003		0.46	
Marmelat	Materyal	3	4.70	467**	3.47	55**	12.08	189**	9.70	1857**
Dolgulu	Hata	4	0.01		0.06		0.06		0.005	
Çikolata	Materyal	3	4.49	34**	3.89	1171**	13.80	2063**	7.67	858**
Kaplamalı	Hata	4	0.13		0.003		0.006		0.008	

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.67. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde *S. boulardii* sayısına (log kob/g) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek türü	Kat Mat.	Depolama süresi (gün)									
		0		30		60		90		Ortalama (%)	
		Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Canlılık	Ortalama (%)
Sade	P	0.0 ^b ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	GS	0.0 ^b ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	P/GS	2.9 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^b
	GS/P	0.0 ^b ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	Kontrol	0.0 ^b ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
Krema	P	5.5 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	5.2 ^a ± 0.1	94.5 ^a ± 0.3	5.09 ^a ± 0.1	92.1 ^a ± 1.9	4.4 ^a ± 0.2	80.4 ^a ± 4.7	89.0 ^a	88.0 ^a
	GS	5.3 ^{ba} ± 0.2	100.0 ± 0.0	5.0 ^{ba} ± 0.1	95.7 ^a ± 5.1	4.95 ^b ± 0.1	94.2 ^a ± 4.2	3.8 ^a ± 0.4	72.4 ^a ± 10.7	87.4 ^a	88.0 ^a
	P/GS	3.6 ^c ± 0.1	100.0 ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^c	15.3 ^b
	GS/P	2.7 ^d ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.5 ^c ± 0.1	91.9 ^a ± 2.8	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	30.6 ^b	59.7 ^a
	Kontrol	4.9 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.9 ^b ± 0.1	98.4 ^a ± 0.4	4.7 ^c ± 0.1	94.2 ^a ± 1.9	4.1 ^a ± 0.0	81.9 ^a ± 1.2	91.5 ^a	91.5 ^a
Marmelat	P	5.2 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	5.1 ^a ± 0.1	98.0 ^a ± 2.3	4.7 ^a ± 0.3	90.5 ^a ± 8.4	4.5 ^a ± 0.1	87.3 ^a ± 0.4	91.9 ^a	74.5 ^b
	GS	6.1 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.1 ^b ± 0.2	67.2 ^b ± 2.6	3.7 ^b ± 0.2	61.0 ^b ± 2.9	2.6 ^c ± 0.1	43.2 ^b ± 0.9	57.1 ^b	57.8 ^a
	P/GS	3.6 ^c ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.3 ^c ± 0.3	64.3 ^b ± 9.1	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	21.4 ^d	26.1 ^c
	GS/P	2.7 ^d ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.5 ^c ± 0.1	92.8 ^a ± 3.6	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	30.9 ^c	87.8 ^a
	Kontrol	5.1 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	4.8 ^a ± 0.1	93.9 ^a ± 0.2	4.6 ^a ± 0.1	90.3 ^a ± 1.4	4.1 ^b ± 0.2	79.3 ^a ± 5.7	87.8 ^a	87.8 ^a
Çikolata	P	5.6 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	5.0 ^a ± 0.1	90.2 ^a ± 0.8	3.9 ± 0.1	70.9 ^b ± 2.4	3.6 ^a ± 0.1	63.9 ^a ± 2.2	75.0 ^a	75.3 ^a
	GS	5.9 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	5.1 ^a ± 0.0	86.6 ^a ± 0.0	5.0 ± 0.1	85.5 ^a ± 0.9	3.2 ^b ± 0.1	54.6 ^b ± 1.6	75.6 ^a	57.4 ^a
	P/GS	3.6 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	3.1 ^c ± 0.1	86.9 ^a ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	29.0 ^b	28.6 ^b
	GS/P	2.8 ^b ± 0.5	100.0 ± 0.0	2.3 ^d ± 0.0	84.9 ^a ± 15.1	0.0 ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	28.3 ^b	79.1 ^a
	Kontrol	5.1 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.3 ^b ± 0.1	85.3 ^a ± 3.4	4.2 ± 0.1	83.0 ^a ± 3.5	3.5 ^a 0.0	69.0 ^a ± 2.0	79.1 ^a	31.6 ^c
Ortalama (%)		100.0		61.5 ^a		38.1 ^b		31.6 ^c			

4.13.3. *L. acidophilus* İçeriği

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsülleri içeren keklerin depolama sırasında *L. acidophilus* sayısı değişimine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.68’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.69’da ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.70’te verilmiştir. Ayrıca kek örneklerinin *L. acidophilus* sayısının depolama süresi boyunca değişimi Şekil 4.25’te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde, taşıyıcı materyal çeşidinin ve depolama süresinin *L. acidophilus* sayısı üzerine önemli ($p < 0.01$; $p < 0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde en yüksek *L. acidophilus* sayısı, GS mikrokapsülü içeren örneklerde tespit edilmiş olup bu değerler sırası ile 6.54, 6.03 ve 6.96 log kob/g seviyesindedir. Bu seviye ürünün probiyotik olarak kabul edilebilmesi için gerekli olan limitler içerisinde olmasına rağmen depolama süresi boyunca korunamamıştır. Depolama başlangıcından sonuna kadar, GS ve P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde bulunan *L. acidophilus* canlılığı yaklaşık olarak %50 oranında azalmıştır. P/GS ve GS/P çift katlı mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde ise depolamanın 60. gününden sonra *L. acidophilus* canlılığı tespit edilememiştir. Bu sonuçlardan anlaşılabileceği üzere çift katlı olarak kaplama tekniği, gıda fazı içerisinde *L. acidophilus* hücrelerinin korunmasına ilaveten bir fayda sağlamamaktadır. Depolama süresince mikroorganizma miktarının azalması ürünlerin vakum altında paketlenmemesinden kaynaklanmış olabilir (Reid vd 2007).

Serbest *L. acidophilus* hücreleri ile yürütülen kek çalışmalarında yüksek asitlik nedeniyle marmelat dolgusu içeren örneklerde depolamanın 30. gününden sonra canlılık tespit edilemezken, çikolata kreması dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde *L. acidophilus* sayısı yaklaşık 2.00 log kob/g seviyesinde kalmıştır.

Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen *L. acidophilus* mikrokapsüllerinin tahıl barı üretiminde kullanıldığı bir çalışmada 120 günlük depolama süresi sonunda hücre sayısının 10.5 log kob/g değerinden 3.10 log kob/g değerine düştüğü tespit edilmiştir (Bampi vd 2016). Mikroenkapsüle ve serbest *L. acidophilus* hücreleri ile “mousse” üretimi yapılmış ve 20 günlük depolama sonunda aljinat kullanılarak mikroenkapsüle edilen *L. acidophilus* hücrelerinin 2 log ve serbest hücrelerin ise 3 log azaldığı tespit edilmiştir (De Castro-Cislaghi vd 2012). Zanjani vd (2012) *L. casei* hücrelerini ekstrüzyon ile mikroenkapsüle ettikten sonra kek kreması içerisine koyarak üretilen kekler depolanmıştır. +4°C de 4 haftalık depolama süresi sonunda kek içerisinde serbest *L. casei* sayısının 10^{11} kob/g seviyesinden 10^4 kob/g seviyesine ve mikroenkapsüle hücrelerin ise 10^7 - 10^8 kob/g seviyesine düştüğü bildirilmiştir.

Çizelge 4.68. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince *L. acidophilus* sayısına (log kob/g) ait I. ve II. tekerrür verileri

Kek tipi	Materyal	Depolama Süresi (gün)			
		0	30	60	90
Sade	GS	2.28	te	te	te
		2.75	te	te	te
	GS/P	1.70	te	te	te
		2.11	te	te	te
	P	2.11	te	te	te
		2.76	te	te	te
	P/GS	3.11	te	te	te
		2.72	te	te	te
	Serbest Hücre	te	te	te	te
		te	te	te	te
Çikolata kreması Dolgulu	GS	6.36	5.78	3.87	3.48
		6.71	5.78	4.26	3.78
	GS/P	3.85	2.69	2.00	0.00
		4.92	3.06	1.78	0.00
	P	5.83	5.14	4.48	3.67
		6.03	5.27	4.30	3.65
	P/GS	4.51	2.94	1.95	0.00
		4.91	2.65	2.05	0.00
	Serbest Hücre	5.85	3.14	2.75	2.38
		5.61	3.05	2.73	2.36
Marmelat Dolgulu	GS	5.84	4.94	3.97	3.44
		6.21	4.17	3.53	3.46
	GS/P	3.98	2.74	1.79	0.00
		4.81	2.82	1.48	0.00
	P	6.02	4.64	4.15	3.18
		6.04	4.90	4.58	2.90
	P/GS	4.36	2.60	1.75	0.00
		5.00	2.56	1.90	0.00
	Serbest	5.19	3.61	2.51	0.00
		4.77	3.38	2.49	0.00
Çikolata Kaplamalı	GS	7.04	4.08	4.08	2.81
		6.87	3.67	4.00	3.41
	GS/P	4.07	3.32	0.00	0.00
		4.81	3.11	0.00	0.00
	P	6.13	5.44	4.03	3.63
		6.03	5.34	3.98	3.54
	P/GS	5.00	2.92	0.00	0.00
		4.68	2.87	0.00	0.00
	Serbest	4.77	3.30	2.26	2.07
		4.75	3.97	2.11	2.26

Çizelge 4.69. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince *L. acidophilus* sayısına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları

	VK		0. gün			30. gün		60. gün		90. gün	
			SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Krema	Materyal	3	1.50	9.76*		2.65	31.70**	3.51	115**	8.86	779**
Dolgulu	Hata	4	0.15			0.08		0.03		0.01	
Marmelat	Materyal	3	4.70	467**		3.47	55**	3.75	60.34**	7.07	754**
Dolgulu	Hata	4	0.01			0.06		0.06		0.009	
Çikolata	Materyal	3	2.66	30.87**		2.46	87.52**	10.78	9696**	7.55	167**
Kaplamalı	Hata	4	0.09			0.03		0.001		0.04	

* p<0.05, ** p<0.01

Yapılan ilgili çalışmada ise sade kek örneklerinde pişirmeden sonra GS, GS/P, P ve P/GS mikrokapsüllerinde *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla ortalama olarak 42, 46, 39 ve 70% olarak hesaplanmıştır. Yapılan bir çalışmada ekmek içerisine *B. lactis* kültürü ilave edilmiş ve pişirmeden sonra merkez, orta ve kabuk olmak üzere üç farklı noktadan örnek alınmıştır. Mikrobiyolojik sonuçlara göre en yüksek korumanın merkez noktasında sağlandığı bildirilmiştir (Zhang vd 2014). Sade kek örneklerinde tüm örneklerde *L. acidophilus* canlılığına rastlanması, mikrokapsüllerin merkeze yerleştirilmesinden kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 4.70. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince *L. acidophilus* sayısına (log kob/g) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek türü	Mat.	Depolama Süresi (gün)									
		0		30		60		90		Ortalama (%)	
		Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Canlılık	Ortalama (%)
Sade	P	2.4 ^{ba} ± 0.3	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	GS	2.5 ^{ba} ± 0.2	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	P/GS	2.9 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^c
	GS/P	1.9 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	Kontrol	0.0 ^c	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
Krema	P	5.9 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	5.2 ^b ± 0.1	87.7 ^a ± 0.3	4.4 ^a ± 0.1	74.1 ^a ± 2.8	3.7 ^a ± 0.2	61.8 ^a ± 1.2	74.5 ^a	71.6 ^a
	GS	6.5 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	5.8 ^a ± 0.1	88.5 ^a ± 2.4	4.1 ^b ± 0.2	62.1 ^a ± 1.3	3.6 ^a ± 0.4	55.5 ^b ± 0.8	68.7 ^a	68.7 ^a
	P/GS	4.7 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	2.8 ^c ± 0.1	59.7 ^b ± 5.6	2.0 ^c ± 0.1	42.5 ^b ± 0.8	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	34.1 ^c	52.3 ^a
	GS/P	4.4 ^b ± 0.5	100.0 ± 0.0	2.9 ^c ± 0.2	66.1 ^b ± 3.8	1.9 ^c ± 0.0	44.1 ^b ± 7.9	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	36.7 ^c	35.4 ^c
	Kontrol	5.7 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	3.1 ^c	54.0 ^b ± 0.4	2.7 ^b ± 0.1	47.8 ^b ± 0.8	2.4 ^b ± 0.0	41.4 ^c ± 0.7	47.7 ^b	47.7 ^b
Marmelat	P	6.0 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.8 ^a ± 0.1	79.1 ^a ± 2.0	4.4 ^a ± 0.2	72.3 ^a ± 3.5	3.0 ^b ± 0.1	50.4 ^a ± 2.3	67.3 ^a	66.3 ^a
	GS	6.0 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	4.6 ^a ± 0.4	76.0 ^b ± 8.7	3.7 ^b ± 0.2	62.5 ^a ± 5.6	3.4 ^a ± 0.1	57.4 ^b ± 1.6	65.3 ^a	65.3 ^a
	P/GS	4.7 ^b ± 0.3	100.0 ± 0.0	2.6 ^c ± 0.1	55.4 ^b ± 4.2	1.8 ^c ± 0.1	39.1 ^b ± 0.9	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	31.5 ^b	47.6 ^{ba}
	GS/P	4.4 ^b ± 0.4	100.0 ± 0.0	2.8 ^c ± 0.1	63.7 ^{ba} ± 5.1	1.6 ^c ± 0.2	37.8 ^b ± 7.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	33.8 ^b	32.6 ^b
	Kontrol	5.0 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	3.5 ^b ± 0.1	70.2 ^{ba} ± 0.6	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	2.5 ^c ± 0.2	50.2 ^b ± 2.0	40.1 ^b	40.1 ^b
Çikolata	P	6.1 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	5.4 ^a ± 0.1	88.7 ^a ± 0.1	4.0 ^a ± 0.1	65.9 ^a ± 0.1	3.6 ^a ± 0.1	59.0 ^a ± 0.2	71.2 ^a	62.0 ^a
	GS	6.9 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	3.9 ^b ± 0.2	55.7 ^a ± 2.2	4.0 ^a ± 0.1	58.1 ^b ± 0.2	3.1 ^a ± 0.3	44.8 ^b ± 4.9	52.9 ^b	52.9 ^b
	P/GS	4.9 ^c ± 0.2	100.0 ± 0.0	2.9 ^c ± 0.1	59.9 ^a ± 1.3	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	20.0 ^c	44.8 ^b
	GS/P	4.4 ^c ± 0.4	100.0 ± 0.0	3.2 ^{cb} ± 0.1	73.2 ^a ± 8.4	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	24.4 ^c	22.2 ^b
	Kontrol	4.8 ^c ± 0.1	100.0 ± 0.0	3.6 ^b ± 0.3	76.4 ^a ± 7.2	2.2 ^b ± 0.1	45.9 ^c ± 1.5	2.2 ^b ± 0.1	45.5 ^b ± 2.0	55.9 ^b	55.9 ^a
Ortalama (%)		100.0		52.7 ^a		32.6 ^b		23.3 ^c			

4.13.4. *B. bifidum* İçeriği

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsülleri içeren keklerin depolama sırasında *B. bifidum* sayısına ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.71’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.72’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.73’te verilmiştir. Ayrıca kek örneklerinin *B. bifidum* sayısının depolama süresi boyunca değişimi Şekil 4.25’te verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde, taşıyıcı materyal çeşidinin ve depolama süresinin *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre çikolata kreması dolgulu kek örneklerinde en yüksek *B. bifidum* sayısı sırasıyla P ve GS örneklerinde tespit edilmiş olup bu değerler 6.09 ve 5.70 log kob/g seviyesindedir. GS mikrokapsülünün *B. bifidum* seviyesi 30. günde düşüş göstermiştir. Her ne kadar en yüksek *B. bifidum* sayısı tek katlı mikrokapsüllerde gözlense de çift katlı P/GS mikrokapsülü *B. bifidum* üzerinde oldukça koruyucu bir etki göstermiş olup depolama başlangıcından sonuna kadar *B. bifidum* canlılığı ortalama olarak %68 oranında tespit edilmiştir. Üretim başlangıcında GS ve P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde istenilen probiyotik seviyesi sağlanmış olsa da bu değer depolama süresi boyunca korunamamıştır. Serbest hücre formları ile üretilen keklerde ise *B. bifidum* sayısı yaklaşık 3 log kob/g oranında azalmıştır. Bu azalışın nedeni ise mikrokapsüllerin su aktivitesinin yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre marmelat dolgulu kek örneklerinde en yüksek *B. bifidum* sayısı sırasıyla P ve GS örneklerinde tespit edilmiş olup bu değerler 6.15 ve 5.95 log kob/g seviyesindedir. Üretim başlangıcında GS ve P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde istenilen probiyotik seviyesi sağlanmış olsa da bu değer depolama süresi boyunca korunamamıştır. 90 günlük depolama sonunda yalnızca P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde *B. bifidum* canlılığı gözlenmiştir. Serbest hücre formları ile üretilen keklerde ise *B. bifidum* sayısı marmelat dolgusunun asidik ortamı nedeniyle hızla azalmış olup 30. günden sonra tespit edilememiştir. Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen *B. animalis* mikrokapsüllerin tahıl barı üretiminde kullanıldığı bir çalışmada ise 120 günlük depolama süresi sonunda hücre sayısının 10.3 log kob/g değerinden 5.2 log kob/g değerine düştüğü belirlenmiştir (Bampi vd 2016).

Çizelge 4.71. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince *B. bifidum* sayısına (log kob/g) ait I. ve II. tekerrür verileri

Kek tipi	Materyal	Depolama Süresi (gün)			
		0	30	60	90
Sade	GS	te	te	te	te
		te	te	te	te
	GS/P	te	te	te	te
		te	te	te	te
	P	te	te	te	te
		te	te	te	te
	P/GS	te	te	te	te
		te	te	te	te
	Serbest Hücree	te	te	te	te
		te	te	te	te
Çikolata Kreması Dolgulu	GS	5.53	0.00	0.00	0.00
		5.86	0.00	0.00	0.00
	GS/P	3.31	2.36	2.40	0.00
		3.62	2.60	2.30	0.00
	P	6.17	4.40	4.26	2.52
		6.01	4.53	4.48	2.28
	P/GS	3.45	2.49	2.40	2.47
		3.75	2.78	2.45	2.12
	Serbest Hücree	5.41	3.18	2.81	0.00
		5.76	2.90	2.70	0.00
Marmelat Dolgulu	GS	5.85	2.70	0.00	0.00
		6.05	2.78	0.00	0.00
	GS/P	3.49	2.61	2.62	0.00
		3.59	2.03	1.76	0.00
	P	5.99	3.30	3.08	2.11
		6.31	3.41	3.18	2.32
	P/GS	3.11	2.34	2.31	0.00
		3.28	2.40	2.21	0.00
	Serbest	3.60	0.00	0.00	0.00
		3.78	0.00	0.00	0.00
Çikolata Kaplamalı	GS	6.08	3.48	0.00	0.00
		6.30	3.86	0.00	0.00
	GS/P	3.73	2.48	0.00	0.00
		3.20	2.30	0.00	0.00
	P	6.52	4.84	4.53	4.12
		6.29	4.77	4.40	3.92
	P/GS	4.50	3.40	0.00	0.00
		4.12	3.38	0.00	0.00
	Serbest	5.60	2.33	0.00	0.00
		5.26	2.06	0.00	0.00

Çizelge 4.72. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama sürecinde *B. bifidum* sayısına (log kob/g) ait varyans analiz sonuçları

VK		0. gün			30. gün		60. gün		90. gün	
		SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Krema	Materyal	3	3.77	94.10**	6.72	339**	6.39	840**	3.68	163**
Dolgulu	Hata	4	0.04		0.02		0.007		0.02	
Marmelat	Materyal	3	4.85	214**	0.45	10.17*	3.56	37.47**	7.07	754**
Dolgulu	Hata	4	0.02		0.04		0.09		0.06	
Çikolata	Materyal	3	4.12	62.67**	1.97	86.69**	9.97	4718**	8.09	1667**
Kaplamalı	Hata	4	0.06		0.02		0.002		0.004	

* p<0.05, ** p<0.01

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre çikolata kaplamalı kek örneklerinde en yüksek *B. bifidum* sayısı sırasıyla P ve GS örneklerinde tespit edilmiş olup bu değerler 6.41 ve 6.19 log kob/g seviyesindedir. Üretim başlangıcında GS ve P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde istenilen probiyotik seviyesi sağlanmıştır. 90 günlük depolama sonunda diğer mikrokapsül örnekleriyle karşılaştırıldığında P mikrokapsüllerini içeren kek örneklerinde oldukça yüksek seviyede *B. bifidum* canlılığı gözlenmiştir. Depolama başlangıcından sonuna kadar P mikrokapsülünü içeren çikolata kaplamalı kek örneklerinde ortalama olarak yaklaşık %69 oranında koruma sağlanmıştır. Serbest hücre formları ile üretilen keklerde ise *B. bifidum* sayısı 60. günden sonra tespit edilememiştir.

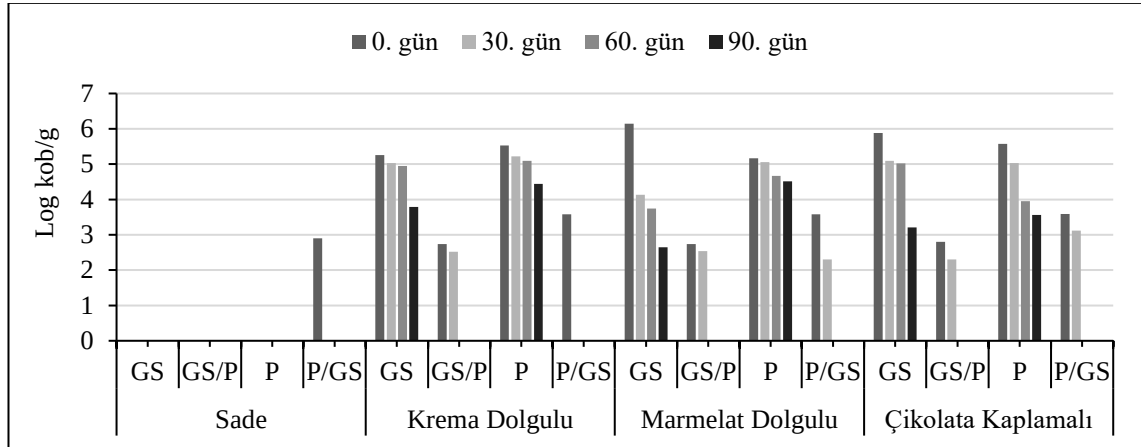
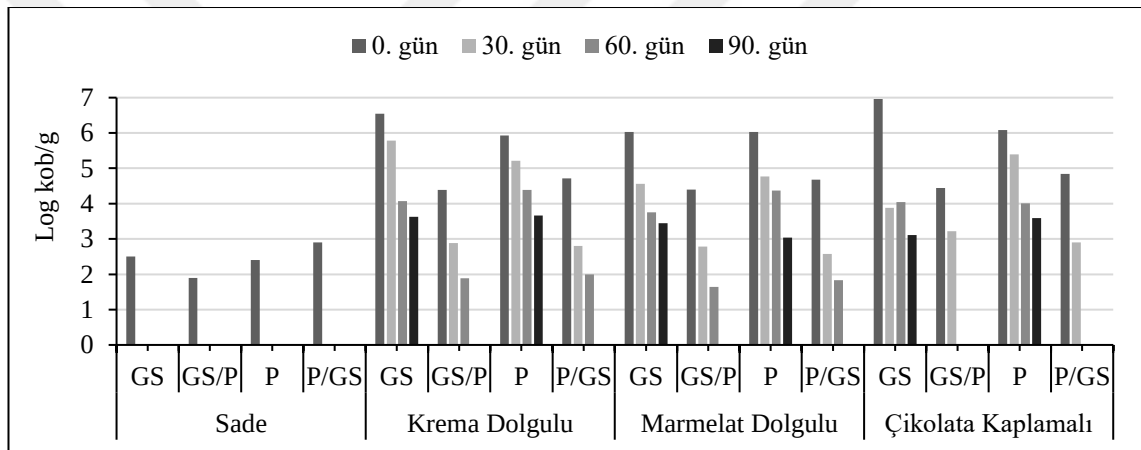
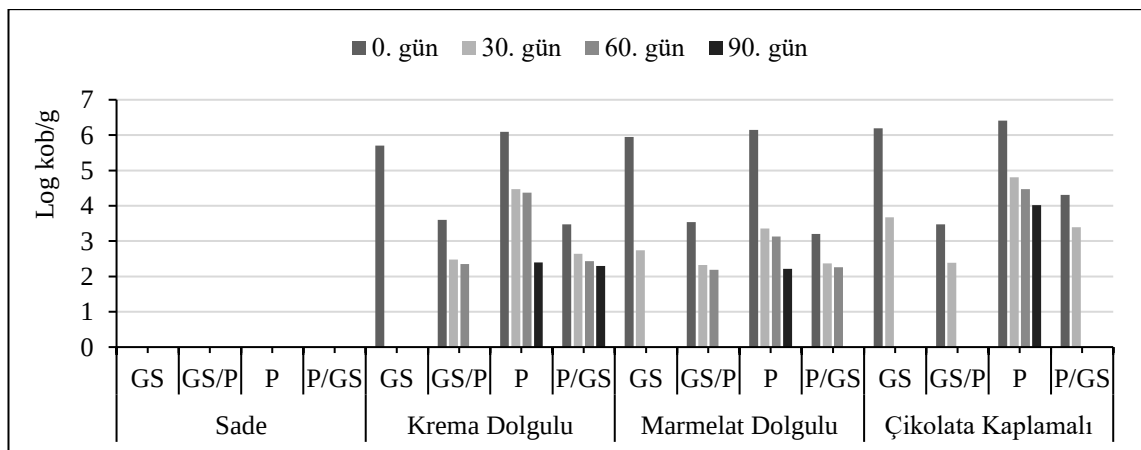
Üretilen çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinin 90 günlük depolama sürecinde *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* değişimindeki verilere ait grafikler sırasıyla Şekil 4.24, 4.25 ve 4.26'da verilmiştir.

Üretilen çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde probiyotik ürün tanımı için gerekli olan 6 log kob/g değeri sağlanabilmiştir. Probiyotik gıdaların faydalı etkilerinin görülebilmesi için tüketilmesi gereken doz miktarı 10^6 - 10^7 kob/g olarak kabul edilmektedir (Champagne vd 2005, Heidebach vd 2012). Ancak bu değer 90 günlük depolama süresi boyunca korunamamıştır. Her ne kadar bazı kek örneklerinde GS mikrokapsülü probiyotik *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısını yüksek tutsa da genel anlamda depolama süresi boyunca bakıldığında P mikrokapsülünün probiyotik mikroorganizmalara daha yüksek stabilite kazandırdığı belirlenmiştir. Bu sonucun elde edilmesinin temel nedeni ise kullanılan hidrofobik karakterli taşıyıcı materyaldir.

Sade kek örnekleri ile yapılan denemelerde ise en yüksek *S. boulardii* ve *L. acidophilus* canlılığının çift katlı P/GS mikrokapsülünde sağlandığı ancak *B. bifidum* hücrelerinin pişirme sıcaklığında hiçbir mikrokapsülde canlı kalmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle ısı işlem gören gıdaların probiyotik olarak geliştirilebilmesinde mutlaka hidrofobik ve hidrofilik karakterli taşıyıcı materyallerin birlikte kullanımının önemli olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.73. Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsüller içeren kek örneklerinin depolama süresince *B. bifidum* sayısına (log kob/g) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek türü	Mat.	Depolama süresi (gün)									
		0		30		60		90		Ortalama (%)	
		Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Sayı	Canlılık	Canlılık	Ortalama (%)
Sade	P	0.0 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	GS	0.0 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	P/GS	0.0 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	GS/P	0.0 ^a ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
	Kontrol	0.0 ^c ± 0.0	100.0 ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a ± 0.0	0.0 ^a
Krema	P	6.1 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.5 ^a ± 0.1	73.3 ^a ± 2.3	4.4 ^a ± 0.1	71.7 ^a ± 2.7	2.4 ^a ± 0.1	39.4 ^b ± 1.5	61.5 ^b	30.7 ^b
	GS	5.7 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^e
	P/GS	3.6 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.6 ^c ± 0.1	73.2 ^a ± 0.9	2.4 ^c ± 0.1	67.4 ^a ± 2.1	2.3 ^a ± 0.2	64.1 ^a ± 7.5	68.2 ^a	42.2 ^a
	GS/P	3.5 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	2.5 ^c ± 0.1	71.6 ^a ± 0.3	2.3 ^c ± 0.1	68.1 ^a ± 4.5	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	46.6 ^c	57.4 ^a
	Kontrol	5.6 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	3.0 ^b ± 0.1	54.6 ^b ± 4.2	2.8 ^b ± 0.1	49.4 ^b ± 2.6	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	34.7 ^d	34.7 ^b
Marmelat	P	6.1 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	3.4 ^a ± 0.1	54.6 ^{bc} ± 0.5	3.1 ^a ± 0.1	50.8 ^a ± 0.5	2.2 ^a ± 0.1	36.0 ^a ± 0.8	47.1 ^a	31.2 ^b
	GS	6.0 ^a ± 0.2	100.0 ± 0.0	2.7 ^b ± 0.4	46.0 ^c ± 0.1	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	15.3 ^b	30.7 ^b
	P/GS	3.2 ^c ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.4 ^b ± 0.1	74.2 ^a ± 1.0	2.3 ^b ± 0.1	70.9 ^a ± 3.3	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	48.4 ^a	45.5 ^a
	GS/P	3.5 ^{cb} ± 0.1	100.0 ± 0.0	2.3 ^b ± 0.1	65.7 ^{ba} ± 9.1	2.2 ^b ± 0.4	62.0 ^a ± 13.3	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	42.6 ^a	42.6 ^a
	Kontrol	3.7 ^b ± 0.1	100.0 ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^d ± 0.0	0.0 ^c ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^c	0.0 ^c
Çikolata	P	6.4 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	4.8 ^a ± 0.1	75.0 ^{ba} ± 0.8	4.5 ^a ± 0.1	69.7 ^a ± 0.2	4.0 ^a ± 0.1	62.8 ^a ± 0.4	69.2 ^a	44.4 ^a
	GS	6.2 ^a ± 0.1	100.0 ± 0.0	3.7 ^b ± 0.2	59.2 ^c ± 2.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	19.7 ^d	30.3 ^b
	P/GS	4.3 ^c ± 0.2	100.0 ± 0.0	3.4 ^b ± 0.1	78.8 ^a ± 3.3	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	26.3 ^b	24.6 ^b
	GS/P	3.5 ^d ± 0.3	100.0 ± 0.0	2.4 ^c ± 0.1	69.1 ^b ± 2.7	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	23.0 ^c	23.0 ^c
	Kontrol	5.4 ^b ± 0.2	100.0 ± 0.0	2.2 ^c ± 0.1	40.4 ^d ± 1.3	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	0.0 ^b ± 0.0	13.5 ^e	13.5 ^e
Ortalama (%)		100.0		41.8 ^a		25.5 ^b		10.1 ^c			

Şekil 4.24. Kek örneklerinin *S. boulardii* sayısının depolama süresi boyunca değişimiŞekil 4.25. Kek örneklerinin *L. acidophilus* sayısının depolama süresi boyunca değişimiŞekil 4.26. Kek örneklerinin *B. bifidum* sayısının depolama süresi boyunca değişimi

4.13.5. Depolama sırasında sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinin probiyotik mikroorganizma sayısı değişimi

Sade kek örnekleri ile yapılan üretimlerde pişirme sonunda *S. boulardii* ve *L. acidophilus* hücrelerin en yüksek korumanın P/GS çift katlı mikrokapsülünde sağlandığı ve bu değerlerin sırasıyla %67.4 ve %70.7 olduğu tespit edilmiştir. Ancak *B. bifidum* hücrelerinin ise hiçbir mikrokapsülde pişirme sırasında canlılığını koruyamadığı belirlenmiştir.

Üretilen çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde probiyotik ürün tanımı için gerekli olan 6 log kob/g değeri sağlanabilmiştir. Ancak bu değer 90 günlük depolama süresi boyunca korunamamıştır. Depolama süresi boyunca hidrofobik özellikte olan P mikrokapsülünün, probiyotik *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* canlılığını daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca çikolata kreması dolgulu kek örneklerinin probiyotik mikroorganizma canlılığını daha fazla desteklediği tespit edilmiştir.

4.14. Kek Örneklerinin pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri

Tek ve çift katlı probiyotik mikrokapsülleri içeren kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerlerine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.74'te, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.75'te ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.76'da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre; örneklerin pH değeri üzerine kek tipi ve depolama süresinin önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca titrasyon asitliği değeri üzerine depolama süresinin önemli ($p<0.01$) bir etkisi gözlenirken kek tipinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre en düşük pH değeri 6.76 ile marmelat dolgulu örneklerde elde edilmiştir. Örnekler arasındaki bu farklılık üretimde kullanılan marmeladın kendi asit içeriğinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Kek örneklerinin pH değeri ise depolama süresi boyunca azalarak 6.97 değerinden 6.90 değerine düşmüştür. Ekstrüzyon yöntemi ile üretilen *L. rhamnosus* mikrokapsülleri bisküvi üretiminde kullanılmıştır. Bisküvilerin pH değerinin 7.6 ile 8.2 arasında değiştiği bildirilmiştir (Reid vd 2007). Yapılan bir çalışmada enkapsüle *L. casei* formu ilave edilen çikolata kreması dolgulu keklerin 4 haftalık depolama süresi boyunca pH değerinde herhangi bir değişim görülmediği bildirilmiştir (Zanjani vd 2012).

Kek örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık oluşmamakla birlikte bu değer ortalama olarak %0.42 değerindedir. Örneklerin titrasyon asitliği değeri depolama süresi boyunca azalarak 0.59 değerinden 0.36 değerine düşmüştür. Titrasyon asitliğinde meydana gelen bu azalış depolama süresi boyunca kek örneklerinde bayatlamadan dolayı bazik karakterli bileşikler oluşmasından kaynaklanabilmektedir. Ayrıca yine örneklerde belirgin olmayan küf gelişimleri de titrasyon asitliği değerinin azalmasına neden olabilir.

Çizelge 4.74. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği (%) değerine ait I. ve II. tekerrür verileri

Kek tipi	pH				Titrasyon asitliği			
	Örnekleme Zamanı (Gün)				Örnekleme Zamanı (Gün)			
	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.
Sade	7.08	7.38	7.04	7.00	0.59	0.36	0.35	0.30
	7.02	7.40	6.87	7.07	0.51	0.34	0.40	0.28
Krema	7.05	7.29	6.83	6.85	0.60	0.20	0.43	0.36
Dolgulu	6.97	7.03	6.92	7.03	0.56	0.36	0.33	0.30
Krema	6.79	6.97	6.48	6.69	0.63	0.30	0.50	0.47
Dolgulu	6.83	6.93	6.66	6.76	0.59	0.38	0.43	0.36
Çikolata	7.02	7.08	6.78	6.83	0.68	0.29	0.49	0.44
Kaplamalı	7.00	7.01	6.83	6.93	0.56	0.45	0.42	0.34

Çizelge 4.75. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği (%) değerine ait varyans analiz sonuçları

VK	pH			Titrasyon asitliği		
	SD	KO	F	SD	KO	F
Kek tipi	3	0.16	25.06**	3	0.01	2.87
Depolama	3	0.16	24.41**	2	0.11	26.24**
Hata	16	0.006		18		

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.76. Kek örneklerinin pH ve titrasyon asitliği (%) değerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek tipi	pH	Titrasyon asitliği
Sade	7.11 ^a ± 0.07	0.39 ^a ± 0.04
Krema Dolgulu	7.00 ^b ± 0.05	0.39 ^a ± 0.05
Marmelat Dolgulu	6.76 ^c ± 0.06	0.46 ^a ± 0.04
Çikolata Kaplamalı	6.94 ^b ± 0.04	0.46 ^a ± 0.04
Depolama (gün)		
0.	6.97 ^b ± 0.04	0.59 ^a ± 0.02
30.	7.14 ^a ± 0.07	0.34 ^c ± 0.03
60.	6.80 ^c ± 0.06	0.42 ^b ± 0.02
90.	6.90 ^b ± 0.05	0.36 ^c ± 0.02

4.15. Kek Örneklerinin Tekstürel Özellikleri

Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.77’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.78’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.79’da verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre, kek tipinin sertlik, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve elastikiyet özellikleri üzerine önemli bir (p<0.01; p<0.05) bir etkisinin olduğu ancak esneklik ve sakızimsılık değerleri üzerine önemli (p>0.05) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca depolama süresinin, kek örneklerinin tüm tekstürel özellikleri üzerine önemli (p<0.01; p<0.05) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre en yüksek sertlik, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik değeri depolamanın son gününde tespit edilmiştir. Sertlik değeri, örneğin TPA cihaz plakaları arasında sıkıştırılması sırasında ilk sıkıştırma anında ölçülen maksimum kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Depolama süresi boyunca kek örneklerinin sertlik değeri yaklaşık 2 kat artmıştır. Bu sonucun elde edilmesindeki en büyük etken retrogradasyon nedeniyle kekin bayatlamasıdır. Kek örneklerinin sertlik değerinde meydana gelen bu artış ile orantılı olarak esneklik, iç yapışkanlık ve elastikiyet değerlerinde düşüş meydana gelmiştir.

Kek örneklerinin çiğnenebilirlik özelliği üzerinde kek tipi etkili olmuş ve çikolata kaplamalı keklerin 1243 ile en düşük çiğnenebilirlik değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çiğnenebilirlik değeri ise 90 günlük depolama süresi boyunca artarak 1577 değerine ulaşmıştır. Çiğnenebilirlik katı bir gıdanın yutmaya hazır hale gelmesi için gerekli enerji olarak tanımlanmaktadır. Kek örneklerinin depolama süresi boyunca meydana gelen bayatlama nedeniyle formülasyonlarında fiziksel değişimler meydana gelmiştir. Sertlik değeri de bu fiziksel değişimlerden birisi olup artışı ile birlikte çiğneme için daha yüksek kuvvet gerektirmektedir. Bu nedenle kek örneklerinin çiğnenme özellikleri giderek azalmıştır.

Çizelge 4.77. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait I. ve II. tekrerrür verileri

Kek Çeşidi	Sertlik (g)			Esneklik			İç Yapışkanlık (g.s)			Sakızmsılık			Çiğnenebilirlik			Elastikiyet								
	Depolama (Gün)			Depolama (Gün)			Depolama (Gün)			Depolama (Gün)			Depolama (Gün)			Depolama (Gün)								
Sade	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.				
	1629	2782	3105	3712	0.92	0.83	0.83	0.82	0.83	0.64	0.61	0.83	1616	1777	1892	2233	1381	1479	1575	1834	0.38	0.27	0.25	0.25
	1532	2464	3019	4137	0.93	0.79	0.84	0.73	0.80	0.63	0.59	0.80	1463	1906	1776	2435	1374	1589	1986	1781	0.37	0.26	0.30	0.23
	1608	2943	3283	3077	0.85	0.82	0.81	0.81	0.70	0.60	0.58	0.70	1132	1770	1892	1759	1000	1448	1536	1426	0.31	0.25	0.23	0.23
Dolgulu	2424	2935	2990	3345	0.91	0.81	0.74	0.91	0.71	0.62	0.58	0.71	1900	1830	1717	2154	1317	1473	1280	1965	0.37	0.26	0.24	0.25
Krema	1271	2788	2682	3066	0.81	0.83	0.83	0.83	0.66	0.60	0.58	0.66	833	1677	1760	1593	1623	1395	1463	1319	0.26	0.25	0.23	0.24
Dolgulu	2371	2562	2682	2751	0.92	0.84	0.77	0.94	0.80	0.62	0.61	0.80	2181	1461	1623	1726	1968	1229	1245	1399	0.36	0.24	0.26	0.23
Çikolata	1637	2441	2684	3438	0.98	0.81	0.84	0.80	0.82	0.51	0.46	0.82	1338	1247	1241	1595	1311	1004	1040	1275	0.40	0.20	0.17	0.20
Kaplamalı	1742	3014	3238	3627	1.03	0.59	0.80	0.83	0.87	0.57	0.64	0.87	1536	1620	1800	1817	1512	1023	1385	1400	0.41	0.24	0.23	0.16

Çizelge 4.78. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	Sertlik		Esneklik		İç Yapışkanlık		Sakızımsılık		Çiğnenebilirlik		Elastikiyet		
	SD	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
Kek tipi	3	304547	3.91*	0.00098	0.52	0.007	3.44*	211816	2.04	256195	5.88**	0.002	2.66*
Depolama	3	3187536	40.94**	0.018	9.88**	0.09	42.47**	233458	2.25*	169595	3.89*	0.03	38.08**
Hata	16	77861		0.002		0.002		103602		43579		0.0008	

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.79. Kek örneklerinin tekstürel özelliklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek tipi	Sertlik (g)	Esneklik	İç yapışkanlık	Sakızmsılık	Çiğnenebilirlik	Elastikiyet
Sade	2865.5 ^a ± 288	0.84 ^a ± 0.02	0.67 ^a ± 0.04	1887.2 ^a ± 112	1637.5 ^a ± 74	0.29 ^a ± 0.02
Krema dolgulu	2737.5 ^a ± 188	0.83 ^a ± 0.02	0.64 ^{ba} ± 0.03	1769.4 ^a ± 103	1425.7 ^{ba} ± 99	0.27 ^{ba} ± 0.02
Marmelat dolgulu	2404.5 ^b ± 212	0.85 ^a ± 0.02	0.64 ^{ba} ± 0.03	1606.7 ^a ± 133	1278.9 ^b ± 97	0.26 ^{ba} ± 0.02
Çikolata kaplamalı	2633.8 ^{ba} ± 243	0.86 ^a ± 0.05	0.59 ^b ± 0.06	1524.3 ^a ± 81	1243.5 ^b ± 69	0.25 ^b ± 0.03
Depolama zamanı (gün)						
0.	1784.1 ^c ± 107	0.92 ^a ± 0.02	0.79 ^a ± 0.03	1499.8 ^b ± 149	1239.6 ^b ± 100	0.36 ^a ± 0.02
30.	2650.4 ^b ± 110	0.82 ^b ± 0.03	0.60 ^b ± 0.01	1660.9 ^{ba} ± 74	1329.9 ^b ± 77	0.25 ^b ± 0.01
60.	2971.3 ^a ± 98	0.81 ^b ± 0.01	0.57 ^b ± 0.02	1712.8 ^{ba} ± 74	1438.9 ^{ba} ± 99	0.24 ^b ± 0.01
90.	3235.5 ^a ± 187	0.83 ^b ± 0.02	0.58 ^b ± 0.02	1914.1 ^a ± 112	1577.4 ^a ± 91	0.22 ^b ± 0.01

4.16. Kek Örneklerinin Duyusal Özellikleri

Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait I. ve II. tekerrür verileri Çizelge 4.80’de, bu verilere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.81’de ve önemli bulunan varyasyon kaynakları ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.82’de verilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre örneklerin görünüm ve tekstür özellikleri üzerine depolama süresinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu, koku özellikleri üzerine kek tipinin önemli ($p<0.05$) bir etkisinin olduğu ve son olarak genel beğeni özellikleri üzerine ise hem kek tipinin hem de depolama süresinin önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre en yüksek koku değerine sade kek örneğinin ve en yüksek genel beğeni değerine ise çikolata kaplamalı kek örneğinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Kek örneklerinin görünüm, tekstür, koku ve genel beğeni kriterleri 90 günlük depolama süresi boyunca azalmıştır. Tüm bunlara ilaveten ise üç aylık depolama süresi sonunda genel beğeni değerinin 3.87 olarak belirlenmesi kek örneklerinin halihazırda tüketilebilir nitelikte olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.80. Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait I. ve II. Tekerrür verileri

Kek tipi	Renk			Görünüm						Tekstür						Tat						Koku						Genel							
	Depolama (Gün)						Depolama (Gün)						Depolama (Gün)						Depolama (Gün)						Depolama (Gün)						Depolama (Gün)				
0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.	0.	30.	60.	90.				
Sade	4.2	4.0	3.8	4.2	4.3	3.8	3.8	4.4	3.8	4.2	3.6	3.3	3.8	3.7	3.6	3.1	3.8	4.0	3.8	3.6	3.8	3.7	3.6	3.7	3.6	3.7	3.7	3.6	3.8	3.7	3.6	3.7			
	4.2	3.6	4.1	3.6	4.2	4.2	3.8	3.7	3.8	3.7	3.7	3.8	4.1	3.6	3.6	3.8	4.2	3.8	4.2	3.8	3.7	4.1	3.7	3.7	4.1	3.7	3.7	3.7	4.1	3.7	3.7	3.5			
Krema	3.6	4.0	3.3	3.8	4.0	4.3	3.8	4.2	4.1	4.1	3.8	3.8	4.2	4.2	3.8	4.0	4.2	4.1	3.6	4.0	4.0	4.0	4.0	3.8	4.2	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	3.8	4.2	4.0		
	4.0	3.6	4.1	3.3	4.5	4.0	4.0	3.7	4.3	3.8	4.3	3.6	4.5	3.7	4.3	4.3	4.5	4.2	4.1	4.5	4.2	4.1	4.5	4.3	3.7	4.2	4.0	4.0	4.0	4.2	4.2	4.0	4.0		
Dolgu	4.0	4.3	4.1	3.7	4.3	4.3	4.0	3.7	4.1	4.0	4.0	3.3	4.0	3.8	3.7	3.6	4.0	4.5	3.6	4.0	4.5	3.6	4.2	4.1	3.8	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.1	3.8	4.0		
	4.0	3.0	2.5	3.6	4.0	3.3	2.8	4.0	4.5	4.0	3.7	3.6	3.5	3.6	4.1	4.3	3.5	3.3	3.8	4.1	3.6	4.2	4.1	3.6	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3		
Çikolata	4.2	4.3	3.8	4.5	4.8	4.3	3.7	4.1	4.8	4.1	3.3	3.2	4.7	4.2	3.7	4.0	4.7	4.6	3.7	3.7	4.8	4.5	3.5	4.2	4.5	4.2	4.5	4.2	4.5	4.5	3.5	4.2	4.2	4.2	
	4.3	4.0	3.7	4.1	4.8	3.8	4.0	4.4	4.7	3.6	4.0	4.0	4.8	3.6	3.7	4.2	5.0	4.0	4.1	4.2	4.8	4.5	3.7	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.7	3.8	3.8	3.8		

Çizelge 4.81. Kek örneklerinin duyusal özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	SD	Renk			Görünüm			Tekstür			Tat			Koku			Genel		
		KO	F		KO	F		KO	F		KO	F		KO	F		KO	F	
Çeşit	3	0.40	1.94		0.26	2.03		0.09	1.17		0.42	4.79		0.38	3.57*		0.39		4.09*
Depolama	3	0.18	0.89		0.52	4.11*		0.67	8.89**		0.26	2.97		0.25	2.22		0.35		4.68*
Hata	16	0.13																	

* p<0.05, ** p<0.01

Çizelge 4.82. Kek örneklerinin duyuşal özelliklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kek tipi	Renk	Görünüm	Tekstür	Tat	Koku	Genel Beğeni
Sade	4.00 ^a ± 0.10	4.08 ^a ± 0.09	3.80 ^a ± 0.09	3.71 ^a ± 0.10	3.89 ^b ± 0.06	3.76 ^b ± 0.06
Krema Dolgulu	3.75 ^a ± 0.09	4.10 ^a ± 0.09	4.03 ^a ± 0.09	4.17 ^a ± 0.09	4.17 ^{ba} ± 0.10	4.06 ^{ba} ± 0.07
Marmelat Dolgulu	3.67 ^a ± 0.22	3.85 ^a ± 0.18	3.92 ^a ± 0.12	3.86 ^a ± 0.10	3.83 ^b ± 0.13	3.75 ^b ± 0.13
Çikolata Kaplamalı	4.16 ^a ± 0.09	4.29 ^a ± 0.15	4.00 ^a ± 0.21	4.16 ^a ± 0.17	4.28 ^a ± 0.17	4.19 ^a ± 0.19
Depolama (Gün)						
0.	4.09 ^a ± 0.08	4.41 ^a ± 0.12	4.32 ^a ± 0.13	4.24 ^a ± 0.16	4.27 ^a ± 0.17	4.25 ^a ± 0.16
30.	3.88 ^a ± 0.16	4.07 ^{ba} ± 0.12	3.97 ^b ± 0.07	3.85 ^a ± 0.09	4.10 ^{ba} ± 0.14	3.88 ^b ± 0.12
60.	3.72 ^a ± 0.20	3.78 ^b ± 0.13	3.85 ^{cb} ± 0.10	3.86 ^a ± 0.09	3.86 ^b ± 0.07	3.77 ^b ± 0.10
90.	3.89 ^a ± 0.13	4.05 ^{ba} ± 0.10	3.62 ^c ± 0.10	3.95 ^a ± 0.15	3.95 ^{ba} ± 0.11	3.87 ^b ± 0.11

5. SONUÇ

Doktora tez çalışmasında püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri ile *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik mikroorganizmalarının mikrokapsüle edilmesi ve elde edilen bu mikrokapsüllerin; sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek üretimlerinde kullanılarak probiyotik özellikte kek üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmanın ilk basamağı olarak püskürterek kurutma ve dondurma yönteminde kullanılacak taşıyıcı materyaller ve mikrokapsül üretim parametreleri belirlenmiştir. Belirlenen bu formülasyon ve parametrelerde tek ve çift katlı probiyotik mikroorganizma içeren mikrokapsüllerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Son aşamada ise üretilen mikrokapsüller; sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı olmak üzere dört farklı kek üretiminde kullanılmıştır.

Üretilen mikrokapsül örneklerinde *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı ve canlılığı, *in vitro* mide sistemi testi, *in vitro* bağırsak sistemi testi, ısıl stabilizasyon testi, depolama stabilizasyon testi, su aktivitesi ve nem, verim ve yığın yoğunluğu, partikül boyutu, DSC ve mikroskobik görüntüleme analizi yapılmıştır. Üretilen kek örnekleri 90 gün boyunca +4°C'de depolama uygulanarak kalite parametreleri takip edilmiştir. Mikrokapsül ilave edilerek üretilen kek örneklerinde 0., 30., 60. ve 90. depolama gününde *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayımı yapılmıştır. Mikrokapsül ilave edilmeden üretilen kek örneklerinde ise aynı depolama sürelerinde pH ve titrasyon asitliği, tekstür ve duyu analizler gerçekleştirilmiştir.

Üretilen mikrokapsül örneklerinin analiz sonuçlarına göre:

- Isıl stabilizasyon testi sonucunda mikrokapsüllerin *S. boulardii* ve *B. bifidum* sayısı üzerine; farklı taşıyıcı formülasyonunun, kurutma sıcaklıklarının ve test inkübasyon sıcaklıklarının önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikrokapsüllerin *L. acidophilus* sayısı üzerine; farklı taşıyıcı formülasyonunun ve test inkübasyon sıcaklıklarının önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu ancak kurutma sıcaklığının ise önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Isıl stabilizasyon testi sonucunda Arap zıkkı/β-siklodekstrin formülasyonu ve 120°C püskürterek kurutma sıcaklığı diğer formülasyonlara ve kurutma sıcaklıklarına göre *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücrelerinin yüksek sıcaklığa karşı daha çok korunmasını sağlamıştır. *L. acidophilus* hücrelerinin sıcaklık toleransında ise kurutma sıcaklığı ile bir fark oluşmamakla birlikte maltodekstrin/β-siklodekstrin formülasyonu daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

- Püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri ile üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayısı üzerine kaplama ve taşıyıcı materyal çeşidinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca her üç faktörün ise mikrokapsüllerin *B. bifidum* içeriği üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işleminden sonra mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayıları ve canlılıkları incelendiğinde, hidrofobik kaplama materyali kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma sayısının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

- *In vitro* mide sistemi testi sonuçlarına göre mikroenkapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve süre mikrokapsüllerin *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kaplama ve taşıyıcı materyal çeşidinin mikrokapsüllerin *S. boulardii* sayısı ve canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak test süresinin sayı üzerine önemli ($p<0.05$) bir etkisinin olduğu ve canlılık üzerine ise önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Yapılan *in vitro* mide sistemi testi verilerine göre mikrokapsül örneklerinin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarının 180 dakikalık test süresi boyunca yaklaşık %80'in üstünde korunduğu belirlenmiştir. Mikroenkapsüle edilmemiş serbest formlar ile yapılan denemelerde ise *L. acidophilus* ve *B. bifidum* hücrelerinin test süresi boyunca canlılıklarını koruyamadığı tespit edilmiştir. Ayrıca serbest *S. boulardii* hücreleri ile yapılan testte ise maya hücrelerinin mide ortamının ekstrem şartlarına oldukça dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

- *In vitro* bağırsak sistemi testi sonuçlarına göre, mikroenkapsülasyon yöntemi ve kaplama çeşidi mikrokapsüllerin *S. boulardii* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu ancak taşıyıcı materyal ve test süresinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon yönteminin, kaplama çeşidinin, taşıyıcı materyalin ve test süresinin *S. boulardii* canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre *in vitro* bağırsak sistemi testinde, mikroenkapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal ve süre mikrokapsüllerin *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon yöntemi, taşıyıcı materyal ve sürenin *L. acidophilus*'un canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$) bir etkide bulunurken, kaplama çeşidinin ise önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten mikroenkapsülasyon yönteminin *B. bifidum* canlılığı üzerine önemli ($p<0.01$) bir etkisi olduğu tespit edilirken *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan *in vitro* bağırsak sistemi testi verilerine göre mikrokapsül örneklerinin *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayıları GS mikrokapsülünde

daha yüksek olarak tespit edilirken, *B. bifidum* sayısı ise P mikrokapsülünde daha yüksek seviyede belirlenmiştir. Hidrofobik kaplama materyali mide sisteminde daha iyi koruma sağlarken bağırsak ortamında ise hidrofilik kaplama materyalinin daha yüksek koruma sağladığı belirlenmiştir. Tüm bunlara ek olarak serbest formdaki *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücreleri *in vitro* bağırsak ortamı şartlarında kısmen canlılığını koruyabilmiş ancak *L. acidophilus* hücreleri ise test süresi boyunca canlılıklarını sürdürememiştir.

- Isıl stabilizasyon testinde, kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve inkübasyon sıcaklığının mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan ısı stabilizasyon testi verilerine göre; GS mikrokapsülü, *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* hücrelerine daha yüksek seviyede bir sıcaklık toleransı kazandırmıştır. Bu sonucun nedeni ise kullanılan hidrofobik kaplama materyalinin (hidrojenize palm yağı) erime sıcaklığının seçilen inkübasyon sıcaklıklarından düşük olması nedeniyle mikrokapsül formunu koruyamaması olarak değerlendirilmiştir.

Serbest formdaki hücreler ile yapılan ısı stabilizasyon testi sonucunda *S. boulardii* ve *B. bifidum* hücreleri yalnızca 50°C'de 30 dk bekletme sonunda canlılık gösterebilmiş ve artan diğer sıcaklıklarda ise hiçbir canlılık tespit edilememiştir. Buna ek olarak serbest formdaki *L. acidophilus* hücreleri ise hiçbir inkübasyon sıcaklığında belirlenememiştir. Üretilen tek ve çift katlı mikrokapsüllerin probiyotik mikroorganizma canlılığı; 50, 60, 70 ve 80°C inkübasyon sıcaklığında 30 dk bekletme sonunda yaklaşık %50 oranında korunabilmiştir.

- Depolama stabilitesi testine göre kaplama çeşidi, taşıyıcı materyal çeşidi ve depolama süresinin mikrokapsüllerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı üzerine önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Buzdolabı şartlarında gerçekleştirilen depolama stabilitesi testi sonuçlarına göre *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı ve canlılığı en yüksek olarak hidrofobik karakterdeki P mikrokapsülünde sağlanmıştır. Hidrofobik kaplama materyallerinin kullanımı sonucu depolama sırasında oksijen ve nem geçirgenliğinin azaltılması nedeniyle çekirdek materyalinin daha iyi korunduğu değerlendirilmiştir.

- Mikroenkapsüllerin nem içeriği üzerine, kaplama çeşidi ve taşıyıcı materyal çeşidinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu ancak su aktivitesi üzerinde önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Mikrokapsüllerin nem içeriğinin %4.30-13.51 arasında değiştiği ve en düşük nem içeriği değerlerinin püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen hidrofobik karakterli mikrokapsüllerde elde edildiği belirlenmiştir. Ayrıca GS mikrokapsülünün su aktivitesi değeri 0.40 ve P mikrokapsülünün su aktivitesi değeri ise 0.88 olarak ölçülmüş olup tüm mikrokapsül örneklerinde ortalama su aktivitesi değeri 0.68 olarak tespit edilmiştir.

- Mikrokapsül örneklerinin mikroenkapsülasyon verimi ve yığın yoğunluğu üzerine mikroenkapsülasyon yöntemi, kaplama çeşidi ve taşıyıcı materyalin mikrokapsüllerin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Mikrokapsüllerin ortalama mikroenkapsülasyon verimi ve yığın yoğunluğu sırasıyla %48 ve 0.44 g/mL olarak tespit edilmiştir.
- Mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerleri üzerine mikroenkapsülasyon yönteminin önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu ancak kaplama çeşidi ve taşıyıcı materyalin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri 24.06 ve 4.88 μm olarak tespit edilmiştir. Püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama değerleri ise 612.54 ve 244.55 μm olarak belirlenmiştir.

- Mikrokapsüllerin yapılan DSC analizine göre Arap zıncığı içeren örneklerin erime noktasının oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna göre P, P/GS, GS ve GS/P mikrokapsül örneklerinin erime noktaları sırasıyla 38.43, 40.12, 174.34 ve 130.64°C olarak belirlenmiştir.
- Mikrokapsüllerin SEM görüntüleme analizlerine göre ise püskürterek kurutma yöntemi ile üretilenlerin püskürterek dondurma yöntemi ile üretilenlere kıyasla daha çok küresel formda olduğu ancak bu kapsüllerde de yer yer çöküntüler meydana geldiği görülmüştür.
- Sade kek örnekleri ile yapılan denemelerde ise *S. boulardii* ve *L. acidophilus* hücrelerin en yüksek P/GS çift katlı mikrokapsülde sağlandığı ancak *B. bifidum* hücrelerinin hiçbir mikrokapsülde pişirme sıcaklığında canlı kalmadığı tespit edilmiştir.
- Üretilen mikrokapsüllerde yapılan kek denemelerinde çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerin *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısı üzerine taşıyıcı materyal çeşidinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Üretilen çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek örneklerinde probiyotik ürün tanımı için gerekli olan 6 log kob/g değeri sağlanabilmiştir. Ancak bu değer 90 günlük depolama süresi boyunca korunamamıştır. Her ne kadar bazı kek örneklerinde GS

mikrokapsülü probiyotik *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sayısını yüksek tutsa da genel anlamda depolama süresi boyunca bakıldığında P mikrokapsülü daha yüksek stabilite kazandırmıştır. Bu sonucun elde edilmesinde materyalin hidrofobik karakterli olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

- Kek örneklerinin pH değeri üzerine kek tipi ve depolama süresinin önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca titrasyon asitliği değeri üzerine depolama süresinin önemli ($p<0.01$) bir etkisi gözlenirken kek tipinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

En düşük pH değeri 6.76 değeri ile marmelat dolgulu örneklerde elde edilmiştir. Kek örneklerinin pH değeri ise depolama süresi boyunca azalarak 6.97 değerinden 6.90 değerine düşmüştür. Kek örneklerinin ortalama titrasyon asitliği ise %0.42 olarak belirlenmiş olup bu değer depolama süresi boyunca azalarak 0.59 değerinden 0.36 değerine düşmüştür.

- Kek örneklerinin sertlik, esneklik ve iç yapışkanlık değerleri üzerine depolama süresinin önemli ($p<0.01$) bir etkisinin olduğu ancak kek tipinin önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kek örneklerinin çiğnenebilirlik özelliği üzerine ise hem depolama süresinin hem de kek tipinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Depolama süresi boyunca kek örneklerinin sertlik değerlerinin yaklaşık iki kat arttığı ve esneklik değerlerinin ise 0.92 değerinden 0.83 değerine düştüğü belirlenmiştir. En yüksek çiğnenebilirlik değerine sade kek örneğinin sahip olduğu ve bu değer depolama süresi boyunca arttığı belirlenmiştir.

- Yapılan duyuşsal analiz sonucunda kek örneklerinin görünüm ve tekstür özellikleri üzerine depolama süresinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu, koku özellikleri üzerine kek tipinin önemli ($p<0.05$) bir etkisinin olduğu ve son olarak genel beğeni özellikleri üzerine ise hem kek tipinin hem de depolama süresinin önemli ($p<0.01$; $p<0.05$) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Kek örnekleri arasında en yüksek genel beğeni oranı çikolata kaplamalı kek örneklerinde elde edilmiştir. Depolama süresi sonunda tüm kek örneklerinin 5 puanlık hedonik skalaya göre 3.75 değerinin üstünde puan aldığı ve bu değer 90 gün sonunda 3.87 olduğu belirlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde ise; püskürterek kurutma ve dondurma yöntemleri kullanılarak *S. boulardii*, *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik hücrelerini içeren mikrokapsül üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen mikrokapsüllerden hidrofobik kaplama materyali kullanılarak püskürterek dondurma sisteminde üretilen P

mikrokapsülünün diğer mikrokapsül örnekleri ile kıyaslandığında yüksek canlılık ve ekstrem şartlara karşı yüksek koruma sağladığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışması ile dış katmanı püskürterek dondurma ve iç katmanı püskürterek kurutma yöntemi ile üretilmiş olan çift katlı probiyotik mikrokapsül örneğinin (P/GS), pişirme sırasında merkez sıcaklığı 102°C olan kek örneklerinde *S. boulardii* ve *L. acidophilus* sayılarını 10^3 log kob/g seviyesinde koruduğu belirlenmiştir. Ancak *B. bifidum* hücreleri ise keklerin pişirilmesi sırasında inaktivasyona uğramış ve hiçbir mikrokapsül örneğinde canlılık tespit edilememiştir. Bu sonuçlara göre; probiyotik fırıncılık ürünlerinin üretilmesinde pişirme toleransı dikkate alındığında *S. boulardii* ve *L. acidophilus* probiyotik mikroorganizmalarının kullanılmasının uygun olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen ve pişirilmiş kek örneklerine uygulanan P mikrokapsülü depolama sırasında çikolata kreması dolgulu ve marmelat dolgulu kek örneklerinde daha yüksek probiyotik mikroorganizma koruması sağladığı belirlenmiştir. Kek tipleri değerlendirildiğinde ise çikolata kreması dolgulu kek örneklerinin daha yüksek probiyotik mikroorganizma canlılığı sağladığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; iç katmanı Arap zıkkı/siklodekstrin karışımı ile püskürterek kurutma ve dış katmanı ise hidrojenize palm yağı ile püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen çift katlı mikrokapsülün (P/GS) kek miksine ilave edildikten ve kek pişirme işleminden sonra 10^3 log kob/g canlı probiyotik mikroorganizma sağladığı, *S. boulardii* ve *L. acidophilus* mikroorganizmalarının ısıl tabilizasyonu yüksek mikrokapsül üretmek için uygun probiyotik mikroorganizmalar olduğu ve pişirme sonucu keklere probiyotik özellik kazandırmak için ise hidrojenize palm yağı kullanılarak püskürterek dondurma yöntemi ile üretilen mikrokapsüllerin (P) çikolata dolgulu kek örneklerine uygulanmasının en uygun yöntem olduğu belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- ALM, L. 2009. Probiotics and human health. *Akademik Gıda*, 7 (5): 6-25.
- ALTAMIRANO-FORTOUL, R., MORENO-TERRAZAS, R., QUEZADA-GALLO, A. and ROSELL, C.M. 2012. Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloid*, 29 (1): 166-174.
- ALVIM, I.D., STEIN, M.A., KOURY, I.P., DANTAS, F.B.H. and CRUZ, C. 2016. Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *Lwt-Food Sci Technol*, 65: 689-694.
- AMINE, K.M., CHAMPAGNE, C.P., RAYMOND, Y., ST-GELAIS, D., BRITTEN, M., FUSTIER, P., SALMIERI, S. and LACROIX, M. 2014. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Cheddar cheese during production and storage. *Food Control*, 37: 193-199.
- ANAL, A.K. and SINGH, H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Tech*, 18 (5): 240-251.
- ANEKELLA, K. and ORSAT, V. 2013. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT - Food Sci Technol*, 50 (1): 17-24.
- ANGELOV, A., GOTCHEVA, V., KUNCHEVA, R. and HRISTOZOVA, T. 2006. Development of a new oat-based probiotic drink. *Int J Food Microbiol*, 112 (1): 75-80.
- ARSLAN, S., DURAK, A.N., ERBAS, M., TANRIVERDI, E. and GULCAN, U. 2015a. Determination of microbiological and chemical properties of probiotic boza and its consumer acceptability. *J Am Coll Nutr*, 34 (1): 56-64.
- ARSLAN, S., ERBAS, M., TONTUL, I. and TOPUZ, A. 2015b. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. *Lwt-Food Sci Technol*, 63 (1): 685-690.
- AVILA-REYES, S.V., GARCIA-SUAREZ, F.J., JIMÉNEZ, M.T., SAN MARTÍN-GONZALEZ, M.F. and BELLO-PEREZ, L.A. 2014. Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydr Polym*, 102 (0): 423-430.
- BAMPI, G.B., BACKES, G.T., CANSIAN, R.L., DE MATOS JR, F.E., ANSOLIN, I.M.A., POLETO, B.C., COREZZOLLA, L.R. and FAVARO-TRINDADE, C.S. 2016. Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food Bioprocess Technol*, 10.1007/S11947-016-1724-Z 1-7.

- BERISTAIN, C.I., GARCÍA, H.S. and VERNON-CARTER, E.J. 2001. Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (prosopis juliflora) gum. *LWT - Food Sci Technol*, 34 (6): 398-401.
- BETORET, N., PUENTE, L., DIAZ, M.J., PAGAN, M.J., GARCIA, M.J., GRAS, M.L., MARTINEZ-MONZO, J. and FITO, P. 2003. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *J Food Eng*, 56 (2-3): 273-277.
- BLANDINO, A., AL-ASEERI, M.E., PANDIELLA, S.S., CANTERO, D. and WEBB, C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res Int*, 36 (6): 527-543.
- BRINQUES, G.B. and AYUB, M.A.Z. 2011. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. *J Food Eng*, 103 (2): 123-128.
- BURGAIN, J., GAIANI, C., LINDER, M. and SCHER, J. 2011. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *J Food Eng*, 104 (4): 467-483.
- BUSTAMANTE, M., VILLARROEL, M., RUBILAR, M. and SHENE, C. 2015. *Lactobacillus acidophilus* La-05 encapsulated by spray drying: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *LWT - Food Sci Technol*, 62 (2): 1162-1168.
- CHAMBI, H.N.M., ALVIM, I. D., BARRERA-ARELLANO, D. and GROSSO, C. R. F. 2008. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterisation and release profiles. *Food Res Int*, 41 (3): 229-236.
- CHAMPAGNE, C.P., GARDNER, N.J. and ROY, D. 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Cr Rev Food Sci Nutr*, 45 (1): 61-84.
- CHAMPAGNE, C.P. and FUSTIER, P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr Opin Biotech*, 18 (2): 184-190.
- CHANDRAMOULI, V., KAILASAPATHY, K., PEIRIS, P. and JONES, M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *J Microbiol Met*, 56 (1): 27-35.
- CHAVEZ, B.E. and LEDEBOER, A.M. 2007. Drying of probiotics: Optimization of formulation and process to enhance storage survival. *Drying Technol*, 25 (7-8): 1193-1201.
- CONSOLI, L., GRIMALDI, R., SARTORI, T., MENEGALLI, F.C. and HUBINGER, M.D. 2016. Gallic acid microparticles produced by spray chilling technique: Production and characterization. *Lwt-Food Sci Technol*, 65: 79-87.

- COOK, M.T., TZORTZIS, G., CHARALAMPOPOULOS, D. and KHUTORYANSKIY, V.V. 2012. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *J Control Release*, 162 (1): 56-67.
- CORCORAN, B.M., ROSS, R.P., FITZGERALD, G.F. and STANTON, C. 2004. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. *J Appl Microbiol*, 96 (5): 1024-1039.
- CORRIGAN, O.I. 1995. Pharmaceuticals and thermal analysis of spray dried products. *Thermochim Acta*, 248 245-258.
- ÇAKIR, İ., ve ÇAKMAKÇI, M. L. 2004. Probiotikler: Tanımı, etki mekanizması, seçimi ve güvenilirlik kriterleri. *Gıda*, 29 (6): 427-434.
- DE CASTRO-CISLAGHI, F.P., SILVA, C.D.E., FRITZEN-FREIRE, C.B., LORENZ, J.G. and SANT'ANNA, E.S. 2012. *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. *J Food Eng*, 113 (2): 186-193.
- DE PRISCO, A. and MAURIELLO, G. 2016. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trend Food Sci Technol*, 48: 27-39.
- DIMITRELLOU, D., KANDYLIS, P., PETROVIĆ, T., DIMITRIJEVIĆ-BRANKOVIĆ, S., LEVIĆ, S., NEDOVIĆ, V. and KOURKOUTAS, Y. 2016. Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk. *LWT - Food Sci Technol*, 71: 169-174.
- DROR, Y., COHEN, Y. and YERUSHALMI-ROZEN, R. 2006. Structure of gum arabic in aqueous solution. *J Polym Sci Pol Phy*, 44 (22): 3265-3271.
- DUONGTHINGOC, D., GEORGE, P., KATOPO, L., GORCZYCA, E. and KASAPIS, S. 2013. Effect of whey protein agglomeration on spray dried microcapsules containing *Saccharomyces boulardii*. *Food Chem*, 141 (3): 1782-1788.
- ERBAŞ, M., 2006. Yeni bir gıda grubu olarak fonksiyonel gıdalar, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 791-794.
- ETCHEPARE, M.D.A., RADDATZ, G.C., CICHOSKI, A.J., FLORES, É.M.M., BARIN, J.S., QUEIROZ ZEPKA, L., JACOB-LOPES, E., GROSSO, C.R.F. and DE MENEZES, C.R. 2016. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *J Funct Foods*, 21: 321-329.
- FAO 2001. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.

- FARNWORTH, E.R. and CHAMPAGNE, C. 2010. Chapter 1 - Production of Probiotic Cultures and Their Incorporation into Foods. in: W. Ronald Rossve R.P. Victor (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health*. Academic Press, Boston, 3-17 s.
- FRITZEN-FREIRE, C.B., PRUDÊNCIO, E.S., AMBONI, R.D.M.C., PINTO, S.S., NEGRÃO-MURAKAMI, A.N.ve MURAKAMI, F.S. 2012. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Res Int*, 45 (1): 306-312.
- GALLO, M., BEVILACQUA, A., SPERANZA, B., SINIGAGLIA, M. and CORBO, M.R. 2014. Alginate beads and apple pieces as carriers for *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, as representative of yeast functional starter cultures. *Int J Food Sci Technol*, 49 (9): 2092-2100.
- GAMBOA, O.D., GONCALVES, L.G. and GROSSO, C. F. 2011. Microencapsulation of tocopherols in lipid matrix by spray chilling method. in: G. Saravacos, P. Taoukis, M. Krokida, V. Karathanos, H. Lazarides, N. Stoforos, C. Tziave S. Yanniotis (Eds.), 11th International Congress on Engineering and Food, 1732-1739 s.
- GARDINER, G.E., O'SULLIVAN, E., KELLY, J., AUTY, M.A.E., FITZGERALD, G.F., COLLINS, J.K., ROSS, R.P. and STANTON, C. 2000. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Appl Env Microbiol*, 66 (6): 2605-2612.
- GARDINER, G.E., BOUCHIER, P., O'SULLIVAN, E., KELLY, J., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G., ROSS, R.P. and STANTON, C. 2002. A spray-dried culture for probiotic Cheddar cheese manufacture. *Int Dairy J*, 12 (9): 749-756.
- GHANDI, A., POWELL, I.B., CHEN, X.D. and ADHIKARI, B. 2012. The effect of dryer inlet and outlet air temperatures and protectant solids on the survival of *Lactococcus lactis* during spray drying. *Drying Technol*, 30 (14): 1649-1657.
- GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A. and SAUREL, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*, 40 (9): 1107-1121.
- GIBBS, B.F., KERMASHA, S., ALLI, I. and MULLIGAN, C.N. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *Int J Food Sci Nutr*, 50 (3): 213-224.
- GRAFF, S., HUSSAIN, S., CHAUMEIL, J. C. and CHARRUEAUL, C. 2008. Increased intestinal delivery of viable *Saccharomyces boulardii* by encapsulation in microspheres. *Pharm Res*, 25 (6): 1290-1296.
- HARDY, G. 2000. Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning. *Nutr*, 16 (7-8): 688-689.

- HEBRARD, G., HOFFART, V., BEYSSAC, E., CARDOT, J.M., ALRIC, M. and SUBIRADE, M. 2010. Coated whey protein/alginate microparticles as oral controlled delivery systems for probiotic yeast. *J Microen*, 27 (4): 292-302.
- HEIDEBACH, T., FORST, P. and KULOZIK, U. 2012. Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Cr Rev Food Sci Nutr*, 52 (4): 291-311.
- HOLKEM, A.T., RADDATZ, G.C., NUNES, G.L., CICHOSKI, A.J., JACOB-LOPES, E., FERREIRA GROSSO, C.R. and DE MENEZES, C.R. 2016. Development and characterization of alginate microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. *LWT - Food Sci Technol*, 71: 302-308.
- HUQ, T., KHAN, A., KHAN, R.A., RIEDL, B. and LACROIX, M. 2013. Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Cr Rev Food Sci Nutr*, 53 (9): 909-916.
- ILHA, E.C., DA SILVA, T., LORENZ, J.G., ROCHA, G.D.O. and SANT'ANNA, E.S. 2015. *Lactobacillus paracasei* isolated from grape sourdough: acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying with skim milk and cheese whey. *Eur Food Res Technol*, 240 (5): 977-984.
- ISLETEN, M., YUCER, Y.K., YILMAZ E. and MENDES, M. 2007. Consumer attitudes and factors affecting buying decision for functional foods. *Gıda*, 32: 25-32.
- JANTZEN, M., GOPEL, A. and BEERMANN, C. 2013. Direct spray drying and microencapsulation of probiotic *Lactobacillus reuteri* from slurry fermentation with whey. *J Appl Microbiol*, 115 (4): 1029-1036.
- KRASAEKOOPT, W., BHANDARI, B. and DEETH, H. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int Dairy J*, 13 (1): 3-13.
- KRASAEKOOPT, W., BHANDARI, B. and DEETH, H. 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int Dairy J*, 14 (8): 737-743.
- LAHTINEN, S.J., OUWEHAND, A.C., SALMINEN, S.J., FORSSELL, P. and MYLLARINEN, P. 2007. Effect of starch- and lipid-based encapsulation on the culturability of two *Bifidobacterium longum* strains. *Lett Appl Microbiol*, 44 (5): 500-505.
- LAPARRA, J.M. and SANZ, Y. 2010. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharm Res*, 61 (3): 219-225.
- LAPSIRI, W., BHANDARI, B. and WANCHAITANAWONG, P. 2012. Viability of *Lactobacillus plantarum* TISTR 2075 in different protectants during spray drying and storage. *Drying Technol*, 30 (13): 1407-1412.

- LIAN, W.-C., HSIAO, H.-C. and CHOU, C.-C. 2002. Survival of *Bifidobacteria* after spray-drying. *Int J Food Microbiol*, 74 (1–2): 79-86.
- LIAN, W.C., HSIAO, H.C. and CHOU, C.C. 2003. Viability of microencapsulated *Bifidobacteria* in simulated gastric juice and bile solution. *Int J Food Microbiol*, 86 (3): 293-301.
- LISOVA, I., HORACKOVA, S., KOVACOVA, R., RADA, V. and PLOCKOVA, M. 2013. Emulsion encapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp lactis BB12 with the addition of lecithin. *Czech J Food Sci*, 31 (3): 270-274.
- MADENE, A., JACQUOT, M., SCHER, J. and DESOBRY, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release - a review. *Int J Food Sci Technol*, 41 (1): 1-21.
- MALMO, C., LA STORIA, A. and MAURIELLO, G. 2013. Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* dsm 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate souffle. *Food Bioprocess Technol*, 6 (3): 795-805.
- MANDAL, S., HATI, S., PUNIYA, A. K., SINGH, R. and SINGH, K. 2012. Development of synbiotic milk chocolate using encapsulated *Lactobacillus casei* ncdc 298. *J Food Proces Preserv*, 37 (5): 1031-1037.
- MATTILA-SANDHOLM, T., MYLLARINEN, P., CRITTENDEN, R., MOGENSEN, G., FONDEN, R and SAARELA, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *Int Dairy J*, 12 (2-3): 173-182.
- MCMASTER, L.D., KOKOTT, S.A. and SLATTER, P. 2005. Micro-encapsulation of *Bifidobacterium lactis* for incorporation into soft foods. *W J Microbiol Biotechn*, 21 (5): 723-728.
- MENG, X.C., STANTON, C., FITZGERALD, G.F., DALY, C. and ROSS, R.P. 2008. Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chem*, 106 (4): 1406-1416.
- MUTHUKUMARASAMY, P., ALLAN-WOJTAS, P. and HOLLEY, R.A. 2006. Stability of *Lactobacillus reuteri* in different types of microcapsules. *J Food Sci*, 71 (1): M20-M24.
- NAG, A., HAN, K.-S. and SINGH, H. 2011. Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. *Int Dairy J*, 21 (4): 247-253.
- NEDOVIC, V., KALUSEVIC, A., MANOJLOVIC, V., LEVIC, S. and BUGARSKI, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. in: G. Saravacos, P. Taoukis, M. Krokida, V. Karathanos, H. Lazarides, N. Stoforos, C.

Tziave S. Yanniotis (Eds.), 11th International Congress on Engineering and Food, 1806-1815 s.

- OKURO, P.K., DE MATOS JUNIOR, F. E. and FAVARO-TRINDADE, C. S 2013a. Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technol. Biotechnol*, 51 (2): 171–182.
- OKURO, P.K., THOMAZINI, MARCELO BALIEIRO, JÚLIO C. C., LIBERAL, ROBERTA D. C. O. and FÁVARO-TRINDADE, CARMEN S. 2013b. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Res Int*, 53 (1): 96-103.
- ORIANI, V.B., ALVIM, I.D., CONSOLI, L., MOLINA, G., PASTORE, G.M. and HUBINGER, M.D. 2016. Solid lipid microparticles produced by spray chilling technique to deliver ginger oleoresin: Structure and compound retention. *Food Res Int*, 80: 41-49.
- OZER, B., KIRMACI, H.A., SENEL, E., ATAMER, M. and HAYALOGLU, A. 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *Int Dairy J*, 19 (1): 22-29.
- PEDROSO, D.D., THOMAZINI, M., HEINEMANN, R. J. B. and FAVARO-TRINDADE, C. S. 2012. Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. *Int Dairy J*, 26 (2): 127-132.
- PEDROSO, D.L., DOGENSKI, M., THOMAZINI, M., HEINEMANN, R.J.B. and FAVARO-TRINDADE, C.S. 2013. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian J Microbiol*, 44 (3): 777-783.
- PEIGHAMBARDOUST, S.H., TAFTI, A.G. and HESARI, J. 2011. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trend Food Sci Technol*, 22 (5): 215-224.
- PELISSARI, J.R., SOUZA, V.B., PIGOSO, A.A., TULINI, F.L., THOMAZINI, M., RODRIGUES, C.E.C., URBANO, A. and FAUARO-TRINDADE, C.S. 2016. Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability. *Food Bioproduct Proces*, 98: 86-94.
- PITIGRISORN, P., SRICHAISUPAKIT, K., WONGPADUNGKIAT, N. and WONGSASULAK, S. 2017. Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in moist-heat-resistant multilayered microcapsules. *J Food Eng*, 192: 11-18.

- PICOT, A. and LACROIX, C. 2003. Effects of micronization on viability and thermotolerance of probiotic freeze-dried cultures. *Int Dairy J*, 13 (6): 455-462.
- PINTO, S.S., FRITZEN-FREIRE, C.B., BENEDETTI, S., MURAKAMI, F.S., PETRUS, J.C.C., PRUDENCIO, E.S. and AMBONI, R. 2015. Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying. *Food Res Int*, 67: 400-408.
- PRADO, F.C., PARADA, J.L., PANDEY, A.ve SOCCOL, C.R. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res Int*, 41 (2): 111-123.
- RAJAM, R., KUMAR, S.B., PRABHASANKAR, P. and ANANDHARAMAKRISHNAN, C. 2015. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality. *J Food Sci Technol-Mysore*, 52 (7): 4029-4041.
- REID, A.A., CHAMPAGNE, C. P., GARDNER, N., FUSTIER, P. and VUILLEMARD, J. C. 2007. Survival in food systems of *Lactobacillus rhamnosus* R011 microentrapped in whey protein gel particles. *J Food Sci*, 72 (1): M31-M37.
- RIVERA-ESPINOZA, Y. and GALLARDO-NAVARRO, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol*, 27 (1): 1-11.
- RIVEROS, B., FERRER, J. and BORQUEZ, R. 2009. Spray drying of a vaginal probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus*. *Drying Technol*, 27 (1): 123-132.
- ROBERFROID, M.B. 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutr*, 16 (7-8): 689-691.
- ROBITAILLE, R., LEBLOND, F.A., BOURGEOIS, Y., HENLEY, N., LOIGNON, M. and HALLE, J.P. 2000. Studies on small (< 350 μ m) alginate-poly-L-lysine microcapsules. V. Determination of carbohydrate and protein permeation through microcapsules by reverse-size exclusion chromatography. *J Biomed Mat Res*, 50 (3): 420-427.
- ROKKA, S. and RANTAMAKI, P. 2010. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol*, 231 (1): 1-12.
- ROSAS-FLORES, W., RAMOS-RAMÍREZ, E.G. and SALAZAR-MONTOYA, J.A. 2013. Microencapsulation of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* using alginate and gellan gum. *Carbohydrate Polym*, 98 (1): 1011-1017.
- SAARELA, M., MOGENSEN, G., FONDEN, R., MATTO, J. and MATTILA-SANDHOLM, T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotech*, 84 (3): 197-215.

- SANDERS, M.E. 1998. Overview of functional foods: Emphasis on probiotic bacteria. *Int Dairy J*, 8 (5-6): 341-347.
- SENOK, A.C., ISMAEEL, A.Y. and BOTTA, G.A. 2005. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infec*, 11 (12): 958-966.
- SEYEDAIN-ARDABILI, M., SHARIFAN, A. and TARZI, B.G. 2016. The production of synbiotic bread by microencapsulation. *Food Technol Biotech*, 54 (1): 52-59.
- SHAH, A., GANI, A., AHMAD, M., ASHWAR, B.A. and MASOODI, F.A. 2016. β -Glucan as an encapsulating agent: Effect on probiotic survival in simulated gastrointestinal tract. *Int J Bio Macromol*, 82: 217-222.
- SILLICK, M. and GREGSON, C.M. 2012. Spray chill encapsulation of flavors within anhydrous erythritol crystals. *Lwt-Food Sci Technol*, 48 (1): 107-113.
- SOUKOULIS, C., YONEKURA, L., GAN, H.-H., BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S., PARMENTER, C. and FISK, I. 2014. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocol*, 39: 231-242.
- STANTON, C., ROSS, R.P., FITZGERALD, G.F. and VAN SINDEREN, D. 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Curr Opin Biotech*, 16 (2): 198-203.
- TRIPATHI, M.K. and GIRI, S.K. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J Funct Food*, 9: 225-241.
- VALERO-CASES, E. and FRUTOS, M.J. 2015. Effect of different types of encapsulation on the survival of *Lactobacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. *LWT - Food Sci Technol*, 64 (2): 824-828.
- VENTER, C.S. 2006. Prebiotics for the improvement of human health. *Human Ecol*, 14: 1-6.
- WILDERJANS, E., LUYTS, A., BRIJS, K. and DELCOUR, J. A. 2013. Ingredient functionality in batter type cake making. *Trend Food Sci Technol*, 30 (1): 6-15.
- WURTH, R., HORMANNSPERGER, G., WILKE, J., FOERST, P., HALLER, D. and KULOZIK, U. 2015. Protective effect of milk protein based microencapsulation on bacterial survival in simulated gastric juice versus the murine gastrointestinal system. *J Funct Food*, 15: 116-125.
- YING, D., SUN, J., SANGUANSRI, L., WEERAKKODY, R. and AUGUSTIN, M.A. 2012. Enhanced survival of spray-dried microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in the presence of glucose. *J Food Eng*, 109 (3): 597-602.

- YONEKURA, L., SUN, H., SOUKOULIS, C. and FISK, I. 2014. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. *J Funct Food*, 6: 205-214.
- ZANJANI, M.A.K., TARZI, B. G., SHARIFAN, A., MOHAMMADI, N., BAKHODA, H. and MADANIPOUR, M. M. 2012. Microencapsulation of *Lactobacillus casei* with calcium alginate-resistant starch and evaluation of survival and sensory properties in cream-filled cake. *African J Microbiol Res*, 6 (26): 5511-5517.
- ZHANG, F., LI, X.Y., PARK, H.J. ve ZHAO, M. 2013. Effect of microencapsulation methods on the survival of freeze-dried *Bifidobacterium bifidum*. *Journal of Microencapsulation*, 30 (6): 511-518.
- ZHANG, L., HUANG, S., ANANINGSIH, V.K., ZHOU, W. and CHEN, X.D. 2014. A study on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability in bread during baking. *J Food Eng*, 122: 33-37.
- ZHANG, Y., LIN, J. ve ZHONG, Q. 2015. The increased viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers. *Food Res Int*, 71: 9-15.
- ZHAO, R.X., SUN, J. L., TORLEY, P., WANG, D. H., NIU, S. Y. 2008. Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. *W J Microbiol Biotech*, 24 (8): 1349-1354.
- ZHOU, Y., MARTINS, E., GROBOILLOT, A., CHAMPAGNE, C.P. ve NEUFELD, P.C. 1998. Spectrophotometric quantification of lactic bacteria in alginate and control of cell release with chitosan coating. *J Appl Microbiol*, 84 (3): 342-348.

ÖZGEÇMİŞ



Sultan ARSLAN TONTUL 1988 yılında Antalya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 2004 yılında lisans eğitimine başladığı ve bir yıl İngilizce hazırlık eğitimi gördüğü Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlayan Sultan ARSLAN TONTUL, 2011 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı ve aynı yıl doktora eğitimine başladı. Sultan ARSLAN TONTUL halen aynı kurumda eğitimini sürdürmektedir.

