



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**PRONİOZOMLA KAPSÜLLENMİŞ HİDROKSİTİROZOLÜN YOĞURT
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Büşra ALPER
YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**PRONİOZOMLA KAPSÜLLENMİŞ HİDROKSİTİROZOLÜN YOĞURT
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**BÜŞRA ALPER
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar KADİROĞLU KELEBEK**

ADANA, 2024

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmada;

Bu tezin özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edilerek sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, tez kapsamında bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm veri ve bilgiler için bilimsel etik ve gelenek çerçevesinde kaynak gösterdiğimi; bu kaynakları da kaynakçada belirttiğimi beyan ederim. Çalışmam ile ilgili yaptığım beyana aykırı bir durum saptanması halinde tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

18/07/2024

[İmza]

Büşra ALPER

ÖZET

PRONIOZOMLA KAPSÜLENMİŞ HİDROKSİTİROZOLÜN YOĞURT KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Büşra ALPER

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Pınar KADİROĞLU KELEBEK

Temmuz 2024, 103 sayfa

Zeytin yaprağı polifenolleri, sağlığı koruyucu özelliklerden sorumlu biyoaktif bileşenler olup, oleuropein ve ana hidroliz ürünü hidroksitirozol; antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gibi biyoaktif özelliklere sahiptir. Ancak söz konusu bileşikler depolama sırasında faydalı özelliklerini kaybedebilmekte ve gıda ürünlerinde istenmeyen tatlara neden olabilmektedirler. Bu çalışmada, niozomal enkapsülasyonun toz formu olan proniozom yöntemi ile liyofilize zeytin yaprağının sulu kısmından elde edilen ekstraktını içeren nanokapsüller üretilmiş ve farklı miktarlarda fermentasyondan sonra yoğurt örneğine ve fermentasyondan önce süt örneklerine eklenmiştir. Daha sonra hazırlanan yoğurt numuneleri fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite, mikrobiyolojik özellikleri, tekstürel özellikleri, *in vitro* sindirim sistemi metodu ile biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin tespiti, aroma maddeleri analizi ve duyuşal özellikleri açısından incelenmiştir. Ayrıca yoğurt numuneleri 14 gün depolama süresince pH, asitlik, sinerezis (su salma), renk ve *in vitro* sindirim sistemi ile antioksidan kapasitelerindeki değişim açısından incelenmiştir. Üretilen nanokapsüllerin yoğurtta uygulanması antioksidan aktiviteyi arttırmış ve kapsüllenmemiş ekstrakt içeren yoğurttan farklı olarak fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerde önemli bir değişiklik gözlenmemekle birlikte sinerezis oranı azalmıştır. Ayrıca simüle edilmiş *in vitro* sindirim sonrasında yoğurdun depolama günlerine göre DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen antioksidan kapasite değerleri artmıştır. Sonuç olarak, hidroksitirozol içeriği zengin proniozomal zeytin yaprağı sıvı ekstraktı, yoğurdun fonksiyonel özelliklerini geliştirme özelliğine sahip olma potansiyeli taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Enkapsülasyon, Hidroksitirozol, Proniozom, Yoğurt

ABSTRACT

THE EFFECT OF PRNIOosomal ENCAPSULATED HYDROXYTYROZOLE ON YOGHURT QUALITY

Büşra ALPER

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Pınar KADIROĞLU KELEBEK

July 2024, 103 pages

Olive leaf polyphenols are bioactive components responsible for health-protective properties and oleuropein and its main hydrolysis product hydroxytyrosol have bioactive properties such as antioxidant and antimicrobial activity. However, these compounds may lose their beneficial properties during storage and may cause undesirable flavors in food products. In this study, nanocapsules containing the extract obtained from the aqueous part of lyophilized olive leaves were produced by the proniosome method, which is the powder form of niosomal encapsulation, and added to yogurt samples after fermentation and milk samples before fermentation in different amounts. The yogurt samples were then analyzed for their physicochemical properties, total phenolic content, antioxidant capacity, microbiological properties, textural properties, bioaccessibility of bioactive compounds by *in vitro* digestive system method, flavor analysis and sensory properties. In addition, yogurt samples were examined for changes in pH, acidity, syneresis (water release), color and *in vitro* digestion and antioxidant capacity during 14 days of storage. The application of the produced nanocapsules in yogurt increased the antioxidant activity and decreased the syneresis rate, although no significant change was observed in physicochemical and sensory properties compared to yogurt containing non-encapsulated extract. In addition, after simulated *in vitro* digestion, the antioxidant capacity values of yogurt determined by DPPH and ABTS methods increased compared to the storage days. In conclusion, proniosomal olive leaf liquid extract rich in hydroxytyrosol has the potential to improve the functional properties of yogurt.

Keywords: Encapsulation, Hydroxytyrosol, Proniosome, Yoghurt

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin yürütülmesi aşamasında tüm desteğini hissettiğim, ihtiyacım olan her türlü imkan ve kolaylığı sağlayan, her zaman ulaşabildiğim, sorunlarımı çözüme ulaştıran ve tecrübelerinden yararlandığım çok değerli danışmanım Doç. Dr. Pınar KADİROĞLU KELEBEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin geliştirilmesi amacıyla bilgi, tecrübe ve imkanlarını hiçbir zaman esirgemeyen hocam Prof. Dr. Haşim KELEBEK'e teşekkür ederim.

Ayrıca tez savunmamda değerli zamanlarını ayırarak katkı sağlayan hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Ali Emrah ÇETİN ve Dr. Öğr. Üyesi Derya ALKAN'a teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarım konusunda destek olan ve bu süreçte yardımını benden esirgemeyen bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım doktora öğrencisi Ceren İLĞAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca manevi desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım Furkan TOPAL'a teşekkür ederim.

Son olarak varlıkları ve destekleriyle bu günlere gelmemi sağlayan kıymetli anne ve babam Aynur ALPER ve Ömer Faruk ALPER'e sonsuz sevgi ve minnetlerimi sunarım.

Bu tez 221O046 projesi numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

JÜRİ ONAY SAYFASI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Zeytin Yaprağı Yan Ürünlerinin Değerlendirilmesi	4
2.2. Zeytin Yaprağının Bileşimi ve Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
2.3. Doğal Fenolik Bir Bileşen Olarak Hidroksitirozol	6
2.4. Biyoaktif Bileşiklerin Kapsüllemesi	6
2.5. Niozom ile Kapsülleme	9
2.5.1. Proniozom ile Kapsülleme	11
2.6. Biyoaktif Bileşenlerin Zenginleştirme Ortamı Olarak Yoğurt	15
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1. Proniozomal Toz Üretimi	20
3.2. Yoğurt Numunelerinin Hazırlanması	20
3.3. Antioksidan Aktivitenin DPPH ve ABTS Yöntemi ile Belirlenmesi	23
3.3.1. Örneklerin Hazırlanması	23
3.3.2. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	23
3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	24
3.5. Sinerezis (Su Salma) Özelliğinin Belirlenmesi	24
3.6. pH ve Titrasyon Asitliği Ölçümü	24
3.7. Renk Analizi	25
3.8. Tekstür Analizi	25
3.9. Mikrobiyolojik Analizler	25

3.9.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı	25
3.9.2. Laktik Asit Bakteri Sayımı	26
3.9.3. Toplam Maya - Küf Sayımı	26
3.9.4. Koliform Bakteri Sayımı	26
3.10. <i>In vitro</i> Sindirim Sistemi Metodu İle Biyoaktif Bileşiklerin Sindirilebilirliğinin Tespiti	26
3.11. Duyusal Değerlendirme	27
3.12. Aroma Maddeleri Analizi	28
3.13. İstatistiksel Analizler	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1. Yoğurt Örneklerinde Genel Bileşim Analizleri	30
4.1.1. Yoğurt örneklerinde pH ve asitlik	30
4.1.2. Sinerezis analizleri	33
4.1.3. Renk analizi	34
4.1.4. Tekstür analizi	35
4.1.5. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi	38
4.1.6. Toplam fenolik madde miktarı	42
4.2. Mikrobiyolojik Analizler	44
4.3. Yoğurtlarda Aroma Analizi	49
4.4. <i>In vitro</i> Sindirim Analizi	53
4.5. Yoğurt Örneklerinin Duyusal Analizi	58
4.6. Depolama Analizleri	60
4.6.1. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı pH değerleri	60
4.6.2. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı asitlik değerleri	61
4.6.3. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı sinerezis değerleri	62
4.6.4. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı renk değerleri	63
4.6.5. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı <i>in vitro</i> sindirim analizleri	65
5. SONUÇLAR	70
KAYNAKÇA	73

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Niozom yapısının şematik gösterimi .	9
Şekil 2.2. Vezikül büyüklüklerine göre niozomların şematik gösterimi	10
Şekil 2.3. Proniozomal yapının şematik gösterimi	12
Şekil 2.4. Proniozomların formülasyon yöntemlerinin şematik gösterimi .	14
Şekil 2.5. Tarçın yaprağı ekstraktı takviyesinin, kapsüllemenin ve simüle edilmiş <i>in vitro</i> sindirimin, yoğurdun farklı yöntemlerle (DPPH, FRAP) belirlenen antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisi.	18
Şekil 4.1. Sinerezis analizi sonrası yoğurtların su salması görüntüsü.	34
Şekil 4.2. L*, a* ve b* indekslerinin tespiti için bazı yoğurt numunelerinin çekilmiş görüntüleri.	35
Şekil 4.3. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin DPPH ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.	39
Şekil 4.4. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin ABTS ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.	40
Şekil 4.5. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin DPPH ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.	40
Şekil 4.6. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin ABTS ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.	41
Şekil 4.7. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde analiz sonuçları.	43
Şekil 4.8. Fermentasyon öncesi proniozom eklenen yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde analiz sonuçları.	43
Şekil 4.9. Fermentasyon sonrası proniozom ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).	45
Şekil 4.10. Fermentasyon sonrası ekstrakt ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).	46
Şekil 4.11. Fermentasyon öncesi proniozom ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).	46
Şekil 4.12. Fermentasyon öncesi ekstrakt ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).	47
Şekil 4.13. Fermentasyon sonrası sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde <i>in vitro</i> sindirimin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.	54
Şekil 4.14. Fermentasyon sonrası sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde <i>in vitro</i> sindirimin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.	54
Şekil 4.15. Fermentasyon öncesi sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde <i>in vitro</i> sindirimin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.	55
Şekil 4.16. Fermentasyon öncesi sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde <i>in vitro</i> sindirimin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.	55
Şekil 4.17. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinde duyusal analiz değerleri şematik gösterimi.	58
Şekil 4.18. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinde duyusal analiz değerleri şematik gösterimi.	59

Şekil 4.19. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen pH değerleri.	60
Şekil 4.20. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen asitlik değerleri.	61
Şekil 4.21. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen sinerezis değerleri.	62
Şekil 4.22. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca <i>in vitro</i> sindirimin DPPH antioksidan kapasite üzerine etkisi.....	66
Şekil 4.23. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca <i>in vitro</i> sindirimin ABTS antioksidan kapasite üzerine etkisi.....	67



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Vezikül oluşumu için yaygın olarak kullanılan iyonik olmayan amfifiller.	13
Tablo 2.2. Yaygın kullanılan taşıyıcılar.	13
Tablo 4.1. Fermentasyon sonrası farklı miktarlarda proniozom eklenen yoğurtların fizikokimyasal analiz sonuçları	31
Tablo 4.2. Fermentasyon öncesi farklı miktarlarda proniozom eklenen yoğurtların fizikokimyasal analiz sonuçları	32
Tablo 4.3. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.....	36
Tablo 4.4. Fermentasyon sonrası ekstrakt eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.	37
Tablo 4.5. Fermentasyon öncesi proniozom eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.....	37
Tablo 4.6. Fermentasyon öncesi ekstrakt eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.	38
Tablo 4.7. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili.....	50
Tablo 4.8. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili.....	51
Tablo 4.9. Depolamanın yoğurdun renk özellikleri üzerine etkisi.	64

KISALTMALAR

ZY	: Zeytin Yapradı
ZYE	: Zeytin Yapradı Ekstraktı
GC	: Gaz Kromatografisi
MS	: Kütle Spektrometrisi
HT	: Hidroksitirozol
ZP	: Zeta Potansiyeli
EE	: Enkapsülasyon Verimliliğı
SPME	: Katı Faz Mikroekstraksiyon
LAB	: Laktik Asit Bakteri
TMAB	: Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
Kob	: Koloni Oluşuran Birim
FRAP	: Ferric Reducing Ability of Plasma

SEMBOLLER

°C	: Santigrat derece
dk	: Dakika
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
µmol	: Mikromol
M	: Molar
L	: Litre
w/v	: Ağırlık/Hacim
U	: Ünite
log	: Logaritma
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı

1. GİRİŞ

Son yıllarda gıda tesislerinin yan ürünleri ve biyolojik atıklar, çevre için bir tehdit olarak görülmektedir. Özellikle bitkilerden elde edilen doğal ekstraktlar ve biyoaktif bileşikler açısından zengin yan ürünler hem halk hem de bilim insanları tarafından büyük ilgi görmektedir. Bu ilgi ile birlikte doğal ürün ve bileşiklere yönelik artan talebi karşılama ve sağlık açısından önemli faydalara sahip yeni fonksiyonel gıdalar üretme ihtiyacı doğmuştur.

Tarım ürünlerinin toplanması ve endüstriyel işlenmesinden elde edilen yan ürünlerin bir kısmı çeşitli biyoaktif bileşikler içerir (Cifá, Skrt, Pittia, Di Mattia ve Poklar Ulrih, 2018). Zeytin ve zeytinyağı üretim atıkları ve yan ürünleri fonksiyonel gıda ürün bileşenleri olarak önerilmektedir (Mohammadi, Jafari, Assadpour ve Esfanjani, 2016; Rahmanian, Jafari ve Galanakis, 2014). Bu bileşikler arasında oleuropein (yalnızca *Oleaceae* bitkilerine özgü bir sekoiridoid glikozit), verbaskozid, hidroksitirozol ve flavonoidler bulunur (Markhali, Teixeira ve Rocha, 2020). Gıda uygulamalarında, bahsedilen polifenoller açısından zengin yaprak ekstraktları, oksidatif stabilitelerini ve raf ömrünü arttırmak ve beslenme ve sağlık yararlarını geliştirmek amacıyla çok çeşitli gıda ürünlerine dahil edilmek için büyük bir potansiyele sahiptir. Özellikle, oleuropein açısından zengin ekstraktların, gıda formülasyonlarına eklenme potansiyeline sahip olmanın ötesinde, başarılı bir hidroliz sonucunda, hidroksitirozol oluşumu ile ek faydalara sahiptirler (Markhali ve Teixeira, 2024).

Hidroksitirozol (HT), *Oleaceae* zeytin familyasının bitkilerinde yaygın olarak bulunur ve amfifilik özelliklere sahip doğal bir antioksidandır. HT iyi antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikanser ve antioksidan özellikler gösterir ve tıbbi uygulamalarda potansiyele sahiptir (Bertelli Kiani, Paolacci, Manara, Kurti, Dhuli, Bushati, Miertus, Pangallo, Baglivo, Beccari ve Michelini, 2020). Ayrıca son yıllarda yapılan çok sayıda çalışmada bu bileşiğin kanserler ve kardiyovasküler bozukluklar üzerine kemo-düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiştir (Costantini, Di Sano ve Barbieri, 2020; Tejada, Pinya, del Mar Bibiloni, Tur, Pons ve Sureda, 2017). Bu doğal bileşen güvenli, sağlıklı ve yeni bir gıda bileşeni olarak kabul edilmiştir (Monteiro vd., 2021). HT'nin biyomoleküllerle etkileşimi, yapılarını stabilize edebilir ve biyomoleküllerin uygulama alanlarının genişletilmesinde büyük önem taşıyan asıl işlevlerini

yerine getirmelerini sağlayabilir (Chatzikonstantinou, Bellou, Spyrou, Papanikolaou, Simos, Peschos ve Stamatis, 2024).

Yoğurt, özellikle protein ve kalsiyum içeriği açısından yüksek besin değerine sahiptir ve *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterileri kullanılarak fermente edilmesi nedeniyle sağlık üzerine faydalı etkilere sahiptir (Czaja, Baranowska, Mazurek ve Szostak, 2018). Yoğurdun kuru maddesinin süte göre daha yüksek olması, başta kalsiyum olmak üzere mineral içeriğini artırmaktadır. Yoğurt, yaygın olarak tüketilen süt ürünlerinden biridir ve yüksek besin değeri ve duyuşsal özelliklerine ek olarak fenolikler gibi biyoaktif bileşenlerle zenginleştirilmeye uygun bir ortamdır.

Zeytin yaprağı ekstraktı ve diğer doğal polifenollerin mutfaklarda kullanımı, acı tatları ve gıda matrisindeki tutarsızlıkları nedeniyle sınırlıdır. Ayrıca polifenollerin biyoyararlanımı korunmasız formda oldukça düşüktür. Kapsülleme teknolojisi, bu engelleri ortadan kaldırmak ve istenmeyen tadı maskeleyen yanı sıra biyoaktif gıda bileşenlerini korumak için iyi bir stratejidir (Katouzian ve Jafari 2016; Katouzian, Esfanjani, Jafari ve Akhavan, 2017). En iyi kapsülleme yöntemi, biyoaktif katkı maddelerine koruma sağlayabilen ve sindirim sonrasında kontrollü salınımı teşvik edebilen ve böylece biyoerişilebilirliği artırabilen yöntem olmalıdır (Peanparkdee, Borompichaichartkul ve Iwamoto, 2021; Silva, Fernandes, Barros, Fernandes, Alves, Calhelha, Pereira, Barreira, Manrique, Colla, Ferreira ve Barreiro, 2019).

Proniozomlar, kuru granüler proniozomlar ve sıvı kristal proniozomlar (proniozomal jel) olmak üzere iki formda bulunan iyonik olmayan yüzey aktif madde vezikülleridir. Taşıyıcılar olarak proniozomlar, bileşimlerinin modifikasyonu yoluyla kapsüllenmiş aktiflerin kontrollü salınımında rezervuar görevi görmekte ve arzu edilen özellikler, proniozom formülasyonuna uygun yüzey aktif maddeler seçilerek elde edilebilmektedir (Morakul, Teeranachaideekul, Buraphacheep ve Junyaprasert, 2019). Proniozomlar, niozomların kuru formu olan vezikülersistemlerdir ve sıvı muadilleri olan niozomların bazı stabilite sınırlamalarına engel olmak için geliştirilmiştir. Aslında bunlar, kullanımdan hemen önce niozomlar oluşturmak üzere sulu gıda matrislerinde (süt, yoğurt veya fonksiyonel içecekler gibi) hidratlanabilen, yüzey aktif madde kaplı bir taşıyıcının kuru ve serbest akışlı tozlarıdır (Hu ve Rhodes, 1999). Ayrıca proniozomal tozlar, dozlama vetaşıma kolaylığı ve mikrobiyolojik kontaminasyon

riskinin azalması gibi sıvı muadillerine göre çeşitli avantajlar sunmaktadır (Ravaghi, Sinico, Razavi, Mousavi, Pini ve Fadda, 2017; Shehata, Abdallah ve Ibrahim, 2015).

Bu tez çalışmasında, bitki kaynaklı fenoliklerin maksimum düzeyde tutulduğu proniozomların eklenmesi için matris olarak düşük pH'lı bir yoğurt sistemi seçilmiştir. Yoğurt tüm dünyada sağlık ve gıda alanında en popüler, en yaygın olarak tüketilen ürünlerden biridir. Bu çalışmada proniozom yöntemi kullanılarak nanopartiküller üretilmiş ve önemli miktarda hidrokisitirozol içeren fermente edilmiş zeytin yaprağının suyundan elde edilen liyofilize ekstrakt, bu nanotaşıyıcılar tarafından kapsüllenmiştir. Daha sonra, bu proniozomal toz, besleyici bir gıda matrisine uygulanmak üzere bir süt ürünü olarak hem fermentasyon sonrasında hem de öncesinde yoğurda ve süteeklenmişve ardından fonksiyonel bir gıda ürünü üretme olasılığını belirlemek amacıyla fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite, mikrobiyolojik özellikleri, tekstürel özellikleri, *in vitro* sindirim sistemi metodu ile biyoaktif bileşiklerinin sindirilebilirliğinin tespiti, aroma maddeleri analizi ve duyuusal özellikleri açısından incelenmiştir. Elde edilenyoğurt numuneleri 14 gün depolama süresince fizikokimyasal özellikleri, antioksidan kapasite ve *in vitro* sindirim sistemi ile antioksidan kapasitelerindeki değişim açısından incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Zeytin Yapağı Yan Ürünlerinin Değerlendirilmesi

Dünya nüfusundaki hızlı artış, gıda üreten işletmelerin sayısında ve ardından ortaya çıkan gıda atıklarında artışa neden olmakta, bu da sınırlı su ve toprak kaynaklarını kirletmektedir. Bu atık sorunu nedeniyle bilim insanları, girişimci ve işletmeciler atık miktarının azaltılmasına, gıda atıklarının değerlendirilmesine ve böylece kaynakların daha etkin kullanılmasına yönelik bir arayış içerisine girmişlerdir (Sümer, Çiçekve Say, 2016).

Literatürde, tarçın yapağı (Tang, Cham, Hou ve Deng, 2022), nar kabuğu (Hamid vd., 2022), mango kabuğu (Zahid, Ali, Ranadheera, Fang, Dunshea ve Ajlouni, 2022) kullanılarak yürütülen çok sayıda araştırmada gıda atıkları değerlendirilmiş ve daha etkin kullanım olanakları için umut verici bulgu ve sonuçlar elde edilmiştir.

Akdeniz bölgesinde zeytin yetiştiriciliği çok eski tarihlere dayanmaktadır. Tarihsel kayıtlar, zeytin ağacının Girit'te M.Ö. 3500 yıllarında yetiştirildiğini göstermektedir. Bu uzun ömürlü ağaç, bu bölgenin ekonomisi ve kültürünün önemli bir bileşenidir (Loumou ve Giourga, 2003; Soni, Burdock, Christian, Bitler ve Crea, 2006). Zeytin bitkisi, medeniyet boyunca beslenme ve tedavi amacıyla kullanılan önemli bir kaynak olmuştur. Zeytin ağacının yaprakları, meyvesi ve yağlarının birçok kullanım alanı vardır (Soni ve ark., 2006). Zeytin yapağı ekstraktının ateş ve sıtma tedavisinde etkili olduğunu gösteren ilk resmi tıbbi kullanım raporu 1854 yılında yayınlanmıştır (Lee-Huang, Zhang, Huang, Chang ve Huang, 2003). Zeytin yaprakları öğütülmüş, içecek yapılarak ateşin düşürülmesi için ve daha sonraki yıllarda sıtmayı tedavi etmek için çay yapımında kullanılmıştır (Benavente-García, Castillo, Lorente, Ortuño, Del Rio, 2000).

2.2. Zeytin Yapağının Bileşimi ve Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Zeytin yapağı bileşimi genel olarak lignoselülozik maddeler ve zeytin yapağı ekstresi olarak iki kategori ile sınıflandırılabilir. Lignoselülozik maddeler olan selüloz, hemiselüloz ve lignin tüm yaprakları oluşturan yapı taşlarıdır. Genel olarak yaprakların kimyasal bileşimi ve nem

içeriği, yaprakların ısı kapasitesi gibi özelliklerini belirler (Espeso, Isaza, Lee, Sörensen, Jurado, Avena-Bustillos ve Arboleya,2021).

Ayrıca zeytin ağacına özgü moleküller olan oleuropeosidler (oleuropein ve verbascoside dahil), flavonlar (luteolin-7-glikozit, apigenin-7-glikozit, diosmetin-7-glikozit, luteolin ve diosmetin dahil), rutin gibi flavonoller, flavan-3-ol'ler ve kateşin ikameli fenoller (tirozol, hidroksitirozol, vanilin, vanilik asit ve kafeik asit dahil) gibi zeytin yaprağından ekstrakte edilebilen moleküller de vardır. Bu moleküllerin olası rolleri bitkiyi böceklerden ve UV radyasyonundan korumaktır. Bu moleküller arasında oleuropein, zeytin yaprağı ekstraktında en yüksek miktarda bulunan bileşendir. Olgunlaşmamış meyvelerde %14 kadar yüksek bir oranda oleuropein bulunurken, zeytin yapraklarında %24,5 oleuropein, %1,4 apigenin-7-glukozit, %1,4 luteolin-7-307 glukozit ve %1,1 verbaskozid bulunur (Benavente-García, 2000). Oleuropein antioksidatif, antimikrobiyal ve antiviral etkiler gibi önemli özelliklere sahiptir (Espeso vd., 2021).

Oleuropein, 1908'de Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilmiştir. Elenolik asit ve dihidroksi-feniletanolün bir heterosiklik esteri olduğu söylenmiştir (Panizzi, Scarpati ve Oriente, 1960). Oleuropein, zeytin ağacının (*Olea europaea* L.) kabuğunda, yapraklarında ve meyvelerinde bulunan fenolik bir secoiridoid glikozittir. Ayrıca *Oleaceae* ailesinin bazı diğer cinslerinde de bulunur (Benavente-García ve ark., 2000). Oleuropein, koyu kahverengi ve acı bir tada sahip bir glikozittir ve meyvenin kuru ağırlığının %14'ünü oluşturur (Soni ve ark., 2006; Sudjana ve ark., 2009). Oleuropeinin hidrolizi yoluyla elenolik asit, hidroksitirozol, tirozol ve glikoz oluşabilir (Waterman ve Lockwood, 2007).

Genel olarak zeytin yaprağının polifenolik profili, ekstraksiyon için kullanılan teknolojik faktörlerden ve endüstriyel proseslerden etkilenir; bunlar arasında yaprağın ekstraksiyona hazırlığı, çözgentipi, çözgenbileşimi, katı/çözgenoranı, ekstrakte edilen malzemenin partikül boyutu, sıcaklık, pH, zaman ve ekstraksiyon sıcaklığı yer alır. Ayrıca polifenolik profil, yaprak yaşı, olgunluk derecesi, coğrafi köken, yetiştirme ve örnekleme sırasındaki fonolojik aşama gibi tarımsal faktörlerden de etkilenmektedir (Şahin ve Bilgin, 2017).

Yaprak yaşlandıkça meydana gelen kimyasal ve enzimatik işlemler nedeniyle oleuropein miktarı azalırken hidroksitirozol miktarı artmaktadır (Tan ve ark., 2003).

2.3. Doğal Fenolik Bir Bileşen Olarak Hidroksitirozol

Hidroksitirozol esas olarak meyve ve zeytinyağının yanı sıra şarapta bulunan ve doğal fenolik bileşikler arasında yerini alan, bilim insanları tarafından çok çalışılan bir fenoliktir. HT, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, yara iyileşmesi vb. gibi sayısız biyolojik aktivitesi nedeniyle ilgi çeken, dolayısıyla sağlığa faydalı ve hastalıktan koruyucu çeşitli etkiler sunan en güçlü doğal antioksidanlardan biridir (Bertelli ve ark., 2012). Sağlık açısından önemli faydalarından dolayı HT, gıda takviyesi olarak ticari şekildedemin edilebilen fenolik komplekslerde kullanılmaktadır (Bartolomei, Bollati, Li, Arnoldi ve Lammi, 2022, Curci, Corbo, Clodoveo, Salvagno, Rosato, Corazza, Budriesi, Micucci ve Mattioli, 2022).

Diğer biyolojik özelliklerin yanı sıra HT, polifenoller arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip fenolik bileşiklerden biridir (Rietjens, Bast ve Haenen, 2007). HT'nin antioksidan aktivitesi, ilgili oksidatif stres sırasında üretilen reaktif oksijen türlerini doğrudan temizleme (Visioli, Bellomo ve Galli, 1998) ve organizmanın oksidatif strese karşı savunmasını artıracak farklı hücrel sinyal yollarını aktive etme (Zou, Feng, Li, Wang, Wertz ve Weber, 2012) olmak üzere iki mekanizma ile açıklanmıştır.

Bartolomei ve ark. (2022), zeytin üretimi yan ürünlerinin değerlendirilmesi ile elde edilen vebirkatki maddesi olarak satılan hidroksitirozol fenoliğinin, kolesterol metabolizmasını nasıl modüle ettiğini gösteren kapsamlı bir araştırma sunmuşlardır. Sonuçlar bu ürünün kolesterol düşürücü etkisine ilişkin net kanıtlar sunmuş ve yeni diyet takviyelerinin ve/veya kardiyovasküler hastalıkların önlenmesine yönelik fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde bir bileşen olarak kullanılabileceği ön görülmüştür.

2.4. Biyoaktif Bileşiklerin Kapsüllenmesi

Kapsülleme teknolojisi, 1950'lerde karbonsuz kopya kağıdı üretimi için basınca duyarlı duvar malzemelerinin keşfi sırasında ortaya çıkmıştır (Green ve Scheicher, 2007). O zamandan bu yana bu teknoloji kimya, döküm, tıp ve eczacılık dahil olmak üzere çeşitli endüstrilerde yaygın uygulamalar bulmuştur. 1970'li yıllarda kapsülleme teknolojisinin uygulaması gıda

endüstrisine de yayılmış (Calderón-Oliver ve Ponce-Alquicira, 2022) ve başlangıçta kapsülleme için gıda katkı maddeleri, biyoaktif maddeler ve probiyotikler kullanılmıştır.

Ancak araştırmalar genişledikçe ve teknoloji geliştikçe kapsülleme teknolojisinin potansiyeli büyük ölçüde çeşitlenmiş ve gıda işlemede;

- çözünürlüklerini, akışkanlıklarını ve depolama stabilitelerini iyileştirmek için işlenmesi ve depolanması zor olan gaz ve sıvı hammaddeleri katılaştırmak için toz haline getirme (George vd., 2021),
- aroma bileşenlerinin buharlaşmasını önlemek ve aroma kaybını azaltmak için uçuculuğu azaltma (Gu vd., 2023),
- gıda katkı maddeleri ve diğer maddelerin toksikolojik etkilerini azaltarak virulansı azaltma (Acar, 2021),
- birçok gıda kapsülleme işleminin oksidasyonu önleyebilmesi ve ultraviyole, sıcaklık ve nem etkilerine karşı korumak için malzemenin stabilitesini iyileştirme (Sarabandi ve Jafari, 2020),
- birbiriyle reaksiyona girebilecek bileşenlerin ayrı ayrı hapsedilmesini sağlayarak sistem içerisinde stabilitelerinin sağlanmasını ve böylece çeşitli etkili bileşenlerin düzenli bir şekilde salınması,
- etkilerini karşılık gelen zamanlarda göstermesine ve böylece gıda ürünlerinin lezzetini ve besleyiciliğini artırmasına olanak tanıyarak uyumsuz bileşenlerin eşit şekilde karıştırılabilmesi (Li vd., 2019),
- kapsüllenmiş ürünün ağız boşluğunda çözünmemesi ancak besinsel faydalar için içeriğini sindirim kanalına bırakması ile bazı besin maddelerinin hoş olmayan tatları veya kokuları kapsülleme teknikleri ile maskelenebilmesi (Gao ve diğerleri, 2022),
- gıdalardaki mikro besinlerin ve fizyolojik olarak aktif maddelerin aktif etkisini koruyarak bunların insan vücudu üzerinde faydalı etkilerini sağlaması (Chen vd., 2020),
- hapsedilen malzemenin, önceden tasarlanmış bir çözünme ve serbest bırakma mekanizması aracılığıyla belirli bir serbest bırakma modu sağlaması böylece serbest bırakmanın ve eylemin zamanlaması ve miktarı üzerinde hassas kontrol sağlaması ile kontrollü salım (Yue vd., 2020) gibi çeşitli işlevler sunmuştur.

Kapsüllenen maddeye çekirdek malzemesi, kapsülleme için kullanılan malzemeye ise duvar malzemesi adı verilir (Yan ve diğerleri, 2022).

Yapılan bir çalışmada, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, sodyum aljinat ve peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 0,1 M CaCl_2 çözeltisi içerisine eklenmiş ve ekstrüzyon yöntemiyle kapsülendirilmiştir. Başlangıçta 10,00 log kob/g düzeyinde kapsüle formda bulunan *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısının pH 2,0'deki simüle mide ortamında 2 saat tutulduktan sonra azalmadığı tespit edilmiştir. Serbest formdaki *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un ise pH 2,0 ve 2,5'lerdeki simüle mide sıvılarında 1 dakika tutulduktan sonra canlılığını tamamen yitirdiği belirlenmiştir (Yan Chen vd., 2014).

Shi vd., (2013) yaptıkları çalışmada, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* içeren süspansiyonu pastörize süt ile karıştırmış ve karışımı CaCl_2 çözeltisi içerisine aktararak ekstrüzyon yöntemiyle kapsüller üretmişlerdir. Üretilen süt içerikli kapsüller karragenan ve keçiyoynuzu gamı çözeltileri içine eklenmiş ve bir süre bekletilerek kaplanmaları sağlandıktan sonra süzülerek ortamdaki ayrılmışlardır. Çalışmada, pH 2,0 ve pH 2,5'lerdeki simüle mide sıvıları içinde serbest ve kapsüle formdaki *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* bakterisinin canlılığı incelenmiştir. Başlangıçtaki sayısı 10,00 log kob/g düzeyinde bulunan serbest formdaki *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un pH değeri 2,0 ve 2,5'lere ayarlanan mide sıvılarında 1 dakika içerisinde canlılığını tamamen yitirdiği, başlangıçtaki sayısı 10,00 log kob/g düzeyinde bulunan kapsüle formdaki *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un ise pH 2,5'deki ortamda 2 saat tutulduktan sonra canlılığını koruduğu ve pH 2,0'daki ortamda 2 saat tutulduktan sonra sayısının yaklaşık 1 log birim azaldığı belirlenmiştir.

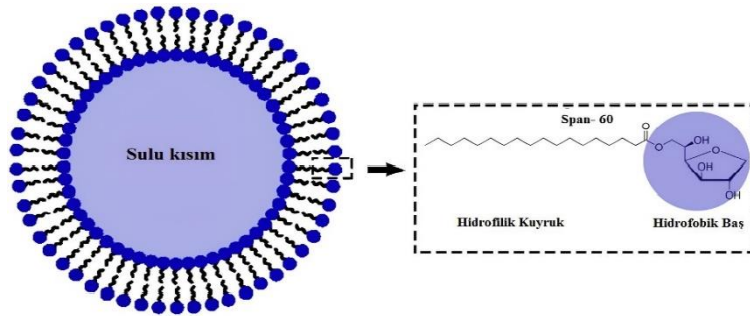
Kapsülleme teknikleri, taşıyıcı malzemelerine ve kullanılan yöntemlere bağlı olarak çeşitli kategorilerde sınıflandırılabilir (Jamuna ve Ramakrishna, 1992). Ayrıca çekirdek malzemenin katı, sıvı ve gaz halinde olmasına bağlı olarak kapsülleme teknikleri kategorilere ayrılır. Katı çekirdek malzemeleri için sprey-kurutma teknolojisi, sprey-soğutma-kurutma, akışkan yatak, yağ fazı ayırma yöntemi, ekstrüzyon, arayüzey polimerizasyonu, havalı süspansiyon ve elektrostatik eğirme; sıvı çekirdek malzemeleri için kompozit fazlar emülsiyon yöntemi, moleküler kapsülleme yöntemi, küçük delikli pıhtılaşma yöntemi, lipozom kapsülleme teknolojisi, emülsiyon kapsülleme, karmaşık koaservasyon ve nanokapsülleme teknolojisi;

gazlı çekirdek malzemeleri için ise süperkritik çarpan akış teknolojisi kullanılabilir (Yuan, Ma, Zhang ve Wang, 2023).

Bu teknolojilerden nanokapsülleme teknolojisinde, biyoaktif maddeler nanokompozit, nanoemülsifikasyon ve nanoyapı yoluyla nano ölçekte kapsülendir ve nanokapsüller içeriklerini kontrollü bir oranda serbest bırakabilirler. Henüz yeni bir teknoloji olan ve geliştirilmekte olan bu yöntem yüksek hassasiyet gerektirir. Bunun yanında, daha yüksek stabilite, geliştirilmiş *in vivo* emilim, kapsüllenen etken maddenin iyileştirilmesi, güvenlik ve işlevsellik gibi avantajları vardır (Yin, Cheng, Zhang ve Wu, 2020).

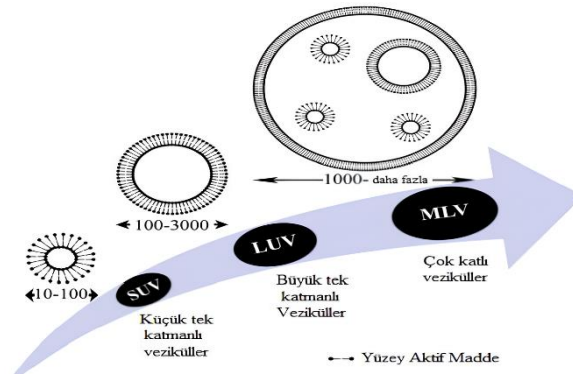
2.5. Niozom ile Kapsülleme

Niozomlar, iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin sulu bir ortama maruz bırakılmasıyla oluşan veziküler sistemlerdir. İlaç dağıtım sistemi olarak bilinenniozomlar, etken maddenin veziküller içine hapsedilmesine dayanan ve iç sulu bölmeyi çevreleyen eşmerkezli hidrofobik çift katmandan oluşan nanokapsüllerdir. Hidrofilik bileşikler, çift tabakalar arasındaki sulu bölmelerde tutulurken, lipofilik bileşenler yüzey aktif madde çift tabakası içinde yer alır (Devaraj, Parakh, Devraj, Apte, Ramesh Rao ve Rambhau, 2002). Bu taşıyıcı sistemler, biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilir olmakla birlikte iyonik olmayan yüzey aktif maddeler ve stabilizatör maddeler varlığında kendiliğinden oluşan veziküler yapılardır (Amoabediny, Haghirsadat, Naderinezhad, Kharanaghi, Arough ve Zandieh-Doulabi, 2018).



Şekil 2.1. Niozom yapısının şematik gösterimi (Moghassemi ve Hadjizadeh, 2014).

Niozomların vezikül boyutu yaklaşık 20 nm ile yaklaşık 50 µm arasında değişmektedir (Moghassemi ve Hadjizadeh, 2014).



Şekil 2.2. Vezikül büyüklüklerine göre niozomların şematik gösterimi (Moghassemi ve Hadjizadeh, 2014).

Niozomlar ilk olarak lipozomlara alternatif kontrollü ilaç dağıtımı olarak kullanılmıştır (Azmin, Florence, Handjani-Vila, Stuart ve Whittaker, 1985). İşleme, depolama ve kullanım gibi aşamalarda fonksiyonel bileşiğin kimyasal ve biyolojik bozulmalardan korunması, hedeflenen alana taşınması ve salınımın kontrolü gibi birçok rol bu sistemlerin görevleri arasındadır (Weiss, Takhistov ve McClements, 2006). Lipozom gibi diğer kapsülleme teknolojilerine göre niozomların ana avantajı (Fang ve Bhandari, 2010; Gibis vd., 2014), düşük maliyetleri, yüksek stabilite ve biyoyumluluklarıdır (Kopermsub, Mayen ve Warin, 2011).

Pando ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, nutrasötik olarak kabul edilen doğal bir polifenol ve ışığa duyarlı bir molekül olan resveratrolü, niozom tekniği ile enkapsüle edip fonksiyonel bir ürün üretmek amacıyla yoğurt katkı maddesi olarak değerlendirmişlerdir. Bunun sonucunda, resveratrol ilavesi, yoğurdun dokusal özelliklerinde değişikliklere neden olmamış ve resveratrol hapsedilmiş niozomların yoğurda uygun katkı maddeleri olduğu bildirilmiştir.

Mısır taneleri depolaması sırasında *Aspergillus flavus* kontaminasyonunu önlemek için kullanılan uçucu yağların raf ömürlerini ve aktivitelerini uzatmak amacıyla etkili bir niozom bazlı kapsülleme protokolü kullanılarak başka bir çalışmada; niozom bazlı formülasyonlar, mısır

tanelerinde mantar büyümesini ve *Aspergillus flavus* birikimini azaltmak için başarılı bir şekilde uygulanmıştır (García-Díaz, Patiño, Vázquez ve Gil-Serna, 2019).

Yapılan başka bir çalışmada, doğal bir flavanoid olan ve çok sayıda faydasına rağmen, düşük suda çözünürlüğe sahip olması nedeniyle insan vücudunda sınırlı emilime neden olan kuersetin, niozom tekniği ile kapsüllenmiş ve portakal suyu modelini güçlendirmek için kullanılmıştır. Bunun sonucunda uygun bir stabilizatör kullanılmasının da etkisiyle niozomal yapı sertleşmiş, böylece kuersetinin sızması azaltılmış ve portakal suyunda kararlılık gösterdiği belirlenmiştir (Elmi, Gharbarzadeh, Ayaseh, Sahraee, Heshmati, Hoseini, Pezeshki, 2021).

Rezvani ve ark.'nın (2019) yaptıkları çalışmada, biyoaktif peptit olan izolösin-prolin-prolin, niozomal ve lipozomal veziküllere yüklenerek fonksiyonel içeceklerin etkinliği ve pratik kullanım fizibilitesi değerlendirilmiştir. Niozom eklenen fonksiyonel içecek, uzun süreli depolama sırasında lipozom eklenenden daha tercih edilebilir lezzet, biyolojik aktivite ve daha uzun süreli salınım davranışı sergilemiştir.

Niozomlar, lipozomlara göre birçok avantaj sunmalarına rağmen raf ömrünü sınırlayacak olan agregasyon, füzyon, hapsolmuş ilacın sızması ve kapsüllenmiş ilaçların hidrolizinde kendini gösteren bazı stabilite sınırlamalarına sahiptirler. Bu sorunları gidermek ve nakliye, dağıtım, depolama ve dozlamada ek kolaylık sağlamak için proniozomlar geliştirilmiştir. Niozomların gelişmesi, proniozomal dağıtım sistemleri ile sonuçlanmıştır (Morakul vd., 2019).

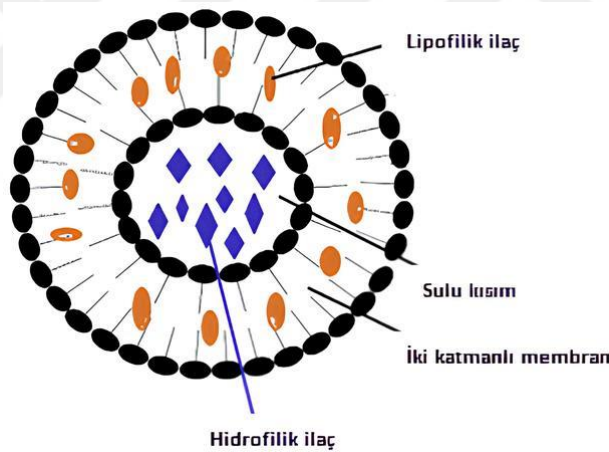
2.5.1. Proniozom ile Kapsülleme

Proniozomlar, yüzey aktif maddelerle kaplanmış kuru, serbest akışlı katı kolloidal taşıyıcı parçacıklardır ve birkaç dakika içinde sulu ortamda çalkalanarak kullanımdan hemen önce hidratlanarak niozomal dispersiyonlara dönüştürülebilirler. Ayrıca proniozomlar hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçları kapsüllemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Kolayca taşınabilmeleri, dağıtılabilmeleri, depolanabilmeleri ve işlenebildikleri için endüstriyel uygulamalar için iyi bir yöntem olarak görülmektedir (Abdul ve Thimmaraju, 2019).

Proniozomlar ilacın etkinliğini artırır, olumsuz etkileri azaltır veya ortadan kaldırır ve ilacın nutrasötik etkilerini arttırırlar. Ayrıca gastrointestinal sistem uyumsuzluklarını en aza indirir

ve ilacın stabilitesini uzun süre korumasını sağlarlar (Naik, Kalia ve Guy, 2000; Hiroyuki ve Makino, 2017; Prausnitz ve Langer 2008).

Proniozomlar mikroskobik katmanlı, altıgen ve siyahımsı yapılar oluşturmaktadırlar ve bulundukları yer berrak, yarı şeffaf ve yarı katı jel benzeri yapılardır (Şekil 2.3). Hazırlama metodolojileri ile tutarlı olarak, proniozomlar tek katmanlı veya çok katmanlı olabilirler. Hatta çift katmanlı yapıları, yüzeyde açıkta kalan hidrofilik uçlara ve veziküllerin içindeki çift tabaka içinde birbirine bakan hidrofobik zincirlere sahiptir. Çift tabaka iyonik olmayan yüzey-aktif maddelerden oluşur. İki katmanlı bir yüzey aktif madde molekülü oluşturmak için, iyonik olmayan yüzey aktif maddenin hidrofilik uçları dışa doğru düzenlenirken, hidrofobik uçlar ters yönde olacak şekilde yönelmektedir. Hidrofilik ilaçlar vezikül içinde çevrelenen alana aralıklarla yerleştirilir ve hidrofobik ilaç çift tabaka içine implante edilir. Birleşme için, sıvı ortamda, proniozomlar stabilizatöre, farklı iyonik olmayan yüzey aktif madde kategorileri ile bağlanır (Walve, Rane, Gujrathi, Bakaliwal ve Pawar, 2011).



Şekil 2.3. Proniozomal yapının şematik gösterimi (Ajrin ve Anjum, 2022).

Proniozomların hazırlanmasında kullanılan bazı malzemeler bulunmaktadır:

Yüzey aktif maddeler: Yüzey aktif maddeler, özellikle iyonik olmayan yüzey aktif maddeler, proniozomların hazırlanmasında kullanılan temel yapısal bileşenleridir. Bu yüzey aktif maddelerin kutupsal bir başları ve kutupsal olmayan kuyrukları olduğundan herhangi bir yükleri yoktur. Dolayısıyla stabilite, toksisite ve uyumlulukları diğer yüzey aktif

maddelere göre daha yüksektir. Yaygın olarak kullanılan bazı iyonik olmayan yüzey aktif maddeler Tablo 2.1.'de verilmiştir:

Tablo 2.1. Vezikül oluşumu için yaygın olarak kullanılan iyonik olmayan amfifiller (Reddy ve Gandla 2022).

Numara	İyonik Olmayan Amfifiller	Örnekler
1	Alkil eterler ve alkil gliseril eterler	Polioksietilen 4 lauril eter polioksietilen setil eterler polioksietilen stearil eterler
2	Sorbitan yağ asidi esterleri	Span 20, 40, 60, 80
3	Polioksietilen yağ asidi esterleri	Tween 20, 40, 60, 80

Stabilizatörler: Kolesterolveya dodekanol gibi stabilizatörler, iyonik olmayan yüzey aktif maddelerle etkileşime girebilir ve proniozomların fiziksel ve yapısal özelliklerini düzenlerler.

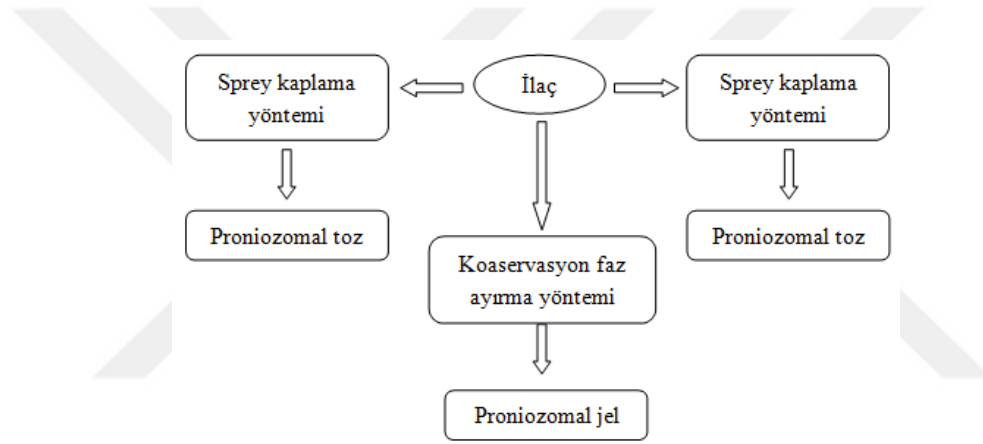
Taşıyıcı materyaller: Taşıyıcı materyaller ilacı proniozomal formülasyonlarda barındırır. Taşıyıcılar güvenli, toksik olmayan ve serbest akış özelliklerine sahip olmalıdır. Yüklü çözeltide düşük çözünürlüğe sahip olmalı, ancak hidrasyon kolaylığı için suda iyi çözünürlüğe sahip olmalıdırlar. Yüzey alanını artırırlar ve proniozomlara esneklik kazandırır. Sıklıkla kullanılan taşıyıcı malzemeler sorbitol, mannitol, maltodekstrin, glukoz monohidrat, püskürtülerek kurutulmuş laktoz, sükroz stearat ve laktoz monohidrattır (Akhilesh vd., 2012).Yaygın olarak kullanılan bazı taşıyıcı materyaller Tablo 2.2.'de verilmiştir:

Tablo 2.2. Yaygın kullanılan taşıyıcılar (Reddy ve Gandla 2022).

No	Taşıyıcı malzemeler
1	Maltodekstrin
2	Sorbital
3	Sprey kurutma laktoz
4	Glukoz monohidrat
5	Laktoz monohidrat
6	Sakaroze stearat

Organik çözücüler: Çözücü bir penetrasyon artırıcı olarak görev yapabilir. Ayrıca oluşan veziküllerin boyutunu da büyük ölçüde etkiler. Bir proniozomal formülasyonda ilacın hapsedildiği vezikül boyutu ve nüfuz etme oranı, alkol tipinden etkilenir. Farklı alkoller kullanılarak farklı büyüklükte veziküller oluşturulur (Sahoo, Biswas, Guha ve Kuotsu, 2014).

Suda çözünürlüğü zayıf, biyoyararlanımı ve çözünmesi düşük, membran geçirgenliği zayıf, emilim profili düşük, pH gibi ortam koşullarından etkilenerek kolaylıkla hidrolize olan ve değişken plazma konsantrasyonuna sahip bir ilacın proniozomlar içerisinde kapsüllemesi uygundur (Ahmad, Akhter, Mohsin, Abdel-Wahab, Ahmad, Warsi, Rahman, Mallick ve Ahmad, 2014). Proniozomal ilaç formülasyonu için bulamaç yöntemi, yavaş sprej kaplama yöntemi, koaservasyon faz ayırma yöntemi olmak üzere üç yöntem mevcuttur.



Şekil 2.4. Proniozomların formülasyon yöntemlerinin şematik gösterimi (Ajrin ve Anjum, 2022).

Proniozomların bazı özellikleri vezikül boyutu ve şekli, duruş açısı ölçümü (angle of repose measurement), zeta potansiyeli (ZP), ozmotik şok, enkapsülasyon verimliliği (EE), ilaç içeriği, parçacık boyutu (PS) ölçümü, kendiliğindenlik (rate of spontaneity) oranı (proniozomların hidrasyonunun ardından oluşan niozom miktarı), *in vitro* dinamik çalışma ve stabilite çalışması açısından değerlendirilmektedir.

Vezikül boyut dağılımı ve şekli: Hidrasyon sırasında proniozomlar küresel şekilli niozomlara dönüşür. Niozomların boyutu ve morfolojisi, optik mikroskopi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), foton korelasyon mikroskobu, geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve donma-kırılma metodu ile belirlenebilir (Malhotra ve Jain, 1994). Veziküler boyut dağılımını ölçmek

için dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi uygulanır (Biju, Talegaonkar, Mishra ve Khar, 2006).

Zeta potansiyeli (ZP): ZP değeri parçacığın stabilitesi hakkında bilgi verebilmektedir. ZP, parçacıkların ayrılmasına neden olan aynı elektrik yüküne sahip parçacıklar arasındaki elektrostatik itmeye atfedilir. Zeta potansiyeli elektrostatik kuvveti temsil eder ve bunun daha yüksek pozitif veya negatif miktarları, niozomal sistemin daha yüksek stabilitesine neden olur (Gutiérrez, Matos, Barrero, Pando, Iglesias ve Pazos, 2016). Yüksek bir ZP değeri, yüklü parçacıklarda artan itici etkileşimlere yol açar ve parçacıklar arasında topak oluşumunu engeller. Bu, proniozomlarda eşit boyut dağılımını sağlar. ZP değeri minimum ± 30 mV olan bir proniozomal formülasyon, fiziksel olarak stabil bir formülasyon olarak kabul edilir. Böylece parçacıkların kümelenmesi önlenmektedir (Keservani vd., 2011; Kumar ve Rao, 2011).

Enkapsülasyon verimliliği (EE): EE'yi incelemek için diyaliz, jel filtrasyonu, ultrasantrifüjleme, kolon kromatografisi ve dondurma-çözdürme gibi çeşitli teknikler kullanılarak kapsüllenenserbist ilaç ayrılabilir. EE'yi ölçmek için iki teknik uygulanabilir. Bunlardan biri proniozomal veziküllerin propan (%50) veya triton (%0,1) ile kapsüllenen maddeden ayrılması ve hapsedilmiş ilacın belirlenmesidir. Diğer bir yöntem ise vezikülün ayrılmasından sonra hapsedilmemiş ilacın ölçülmesidir (Abd-Elbary, El-Laithy ve Tadros, 2008). Enkapsülasyon verimliliği aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır:

$$\% \text{ Enkapsülasyon Verimliliği} = \text{ED} / \text{TD} \times 100$$

Burada ED (amount of entrapped drug) hapsedilen ilaç miktarıdır ve TD (initial amount of drug) ilacın başlangıç miktarıdır (Ajrin ve Anjum, 2022).

2.6. Biyoaktif Bileşenlerin Zenginleştirme Ortamı Olarak Yoğurt

Yoğurt; protein, karbonhidrat ve lipitleri dengeli miktarda içeren, süte göre kurumadde içeriği yüksek, kalsiyum, fosfor ve B vitamini bakımından oldukça zengin fermente bir süt ürünüdür. Besleyici değerinin yüksek ve sindiriminin kolay olması, bağışıklık sistemini güçlendirmesi, sindirim sistemini düzenlemesi ve laktoz intoleranslı bireyler tarafından rahat tüketilebilmesi

gibi nedenlerden dolayı insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Farnworth ve Jones 2000; Wouters vd. 2002; García-Burgos vd. 2020).

Yoğurdun insan sağlığı üzerine iyi yönde önemli etkileri olduğunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (Farnworth ve Jones 2000; Wouters vd. 2002; García-Burgos vd. 2020). Yoğurt üretiminde kullanılan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un oluşturdıkları laktik asit ve protein bazlı bileşikler aracılığıyla insan sağlığını tehdit eden patojen bakterilerle birlikte birçok saprofit bakterinin de çalışmasını engellediği belirtilmiştir (Kılıç 1990). *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* temel yoğurt bakterileridir ve bunlar arasında simbiyotik bir ilişki bulunmaktadır. *S. thermophilus*, beslenme açısından seçici olup gelişmesi için karmaşık bir amino asit karışımına gereksinim duymaktadır. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un sütte varlığı *S. thermophilus*'un gelişimine katkı sağlamaktadır. *S. thermophilus* tarafından laktozun hidrolizi sonucu oluşan folik asit ve karbondioksit ise *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un gelişimini desteklemektedir (Vinderola vd. 2002; Wouters vd. 2002).

Yoğurt, lezzet ve yapısal özellikleri açısından tüketici tarafından beğenilen bir üründür. Yoğurdun tekstürel özellikleri çoğunlukla üretimin bir sonucu olarak şekillenmekle beraber, yoğurt bakterilerinin ürettiği ekzopolisakkaritler de yoğurtta tekstürel özellikleri olumlu yönde etkilemektedir (Vinderola vd. 2002; Wouters vd. 2002). Yoğurt besleyici değerinin yanı sıra çeşitli hastalıkların önlenmesinde de etkili olmaktadır (Panesar 2011; García-Burgos vd. 2020).

Yoğurdun insan bağışıklık sistemini güçlendirerek, 2019 yılının sonlarından itibaren tüm dünyayı etkisi altına alan korona virüs (COVID-19) hastalığının önlenmesine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (Alkhatib 2020; Bottari, Castellone, Neviani, 2020; Budhwar 2020; Dazıroğlu, Yıldız ve Akbulut, 2020).

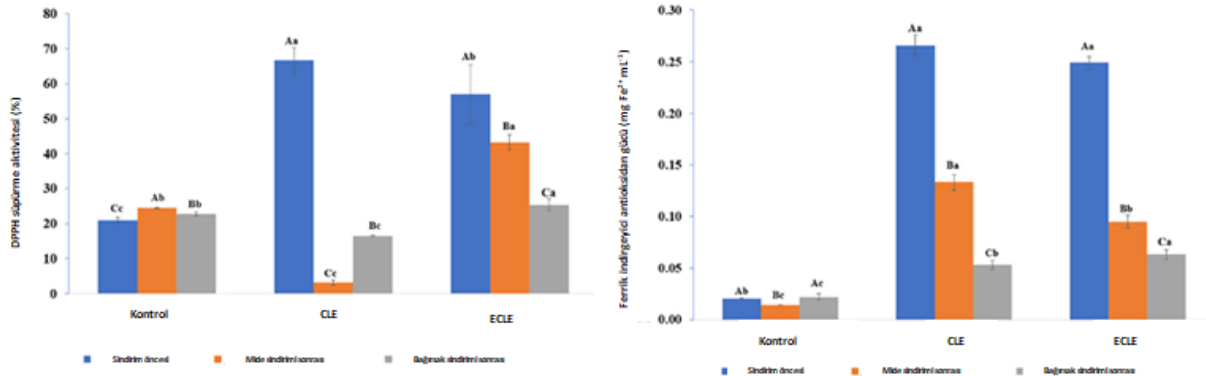
Yoğurt bakterileri olan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'un, genel anlamda probiyotik mikroorganizmalar olarak kabul edilip edilmemesi ve doğal olarak yoğurdunda probiyotik bir gıda olarak nitelendirilmesi ile ilgili olarak farklı değerlendirmeler yapılmaktadır. Yoğurt bakterilerinin probiyotik mikroorganizma olarak değerlendirilebilmeleri için çeşitli stres koşullarına karşı direnç göstererek konakçının

sağlığında yararlı etkiler meydana getirmeleri gerektiği belirtilmektedir. Yoğurdun bileşiminde bulunan yoğurt bakterilerinin canlı olarak konakçıda yeterli miktarda bulunmaları ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler göstermeleri durumunda yoğurt probiyotik bir gıda olarak kabul görebilmektedir (Guarner vd. 2005). Bunun yanında *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* bakterilerinin bazı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellik gösterdikleri, böylelikle bağışıklık sistemini düzenleyici etkilerinin bulunduğu ve probiyotik mikroorganizma olarak değerlendirilebilecekleri de belirtilmiştir (Mena ve Aryana 2012, Usui, Kimura, Satoh, Takemura, Ouchi, Ohmiya, Kobayashi, Suzuki, Koyama, Hagiwara, Tanaka, Imoto, Eberl, Asami, Fujimoto, Uematsu, 2018, Evivie, Abdelazez, Li, Bian, Li, Du, Huo, Liu, 2019). Tüm bunlar göz önüne alındığında, biyoaktif bileşiklerin zenginleştirme ortamı olarak pek çok çalışmada yoğurt kullanılmıştır.

Ghorbanzade ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada, fonksiyonel yoğurt üretimi için balık yağının β -siklodekstrin nanokomplekslerine yüklenmesi üzerine inceleme yapmışlardır. Esansiyel yağ asitlerinin kararsızlığı ve oksidasyonu gıda ürünlerinde kullanımını sınırlandırmasına rağmen omega-3 yağ asitleri, optimal sağlığa ulaşmada ve hastalıklara karşı korunmada rol oynar. Bu zorlukları önlemek için bu çalışmada balık yağının enkapsülasyonu ve zenginleştirilmesi için yoğurda β -siklodekstrin inklüzyon kompleksleri uygulanmıştır. Üretilen yoğurdun fizikokimyasal özellikleri ve duyu testler 4 °C'de 21 günlük depolama süresince incelenmiştir. Sonuçta, balık yağının β -siklodekstrin ile kapsüllenmesinin, yoğurttaki dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asidi (EPA) arttırırken yoğurdun asitliğini, peroksit değerini ve sinerezisini önemli ölçüde azalttığını göstermiş ve bu bulgular sonucunda başarılı bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, nutrasötik olduğu kanıtlanan uçucu yağ ekstraksiyonundan elde edilen atık tarçın yapraklarından üretilen sulu ekstraktın yoğurtta biyoaktif katkı maddesi olarak potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Ayrıca atık tarçın yapraklarından üretilen sulu ekstrakt, agar ile kapsüllenenek yoğurda eklenmiş böylece hem kapsüllenmemiş hem de kapsüllenmiş form arasında karşılaştırma yapılabilmektedir. Agar kullanılarak yapılan kapsülleme, zenginleştirilmiş yoğurdun sindirim sonrası albümin denatürasyon inhibisyon (ADI) aktivitesini azaltmıştır. Bulgular, atık tarçın yapraklarından üretilen ekstrakt ile zenginleştirilmiş yoğurtta agar kapsüllemenin artıları ve eksileri olduğunu göstermesine

rağmen örnekler arasında, bağırsak sindiriminden sonra, kapsüllenmiş tarçın yaprağı ekstresi içeren yoğurt, en yüksek DPPH süpürme aktivitesi ve ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) sergilemiş ve kapsüllemenin, antioksidanları sindirim sırasında azalmayakarşı etkili bir şekilde koruduğunu (Şekil 2.5) ortaya koymuştur (Tang ve ark., 2022).



Şekil 2.5. Tarçın yaprağı ekstraktı takviyesinin, kapsüllemenin ve simüle edilmiş *in vitro* sindirimin, yoğurdun farklı yöntemlerle (DPPH, FRAP) belirlenen antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisi (Tang ve ark., 2022).

Diğer bir çalışmada, gıda takviyesi olarak kateşin yüklü pronizomların formülasyonu yapılmış ve bu pronizomlar karakterize edilerek kateşinlerin gıdalardaki biyoyararlanımının artırılması ve amaçlanan fonksiyonel faydalarından ödün vermeden geliştirilmesi için iyi bir alternatif aranmıştır. Niozomlarla ilgili sorunların üstesinden gelmek için, yüzey aktif madde olarak Span 60, stabilizör olarak kolesterol ve duvar materyali olarak maltodekstrin, laktoz monohidrat ve pullulan kullanarak kateşinleri nanokapsüllemek için niozomların kuru formu olan proniozomlar hazırlanmıştır. Proniozomlar, ince film hidrasyon tekniği ile üretilmiş ve süt ve süt ürünlerine takviye için karakterize edilmiştir. Daha sonra nanokapsüller, organoleptik kabul edilebilirliklerini değerlendirmek için süt ve yoğurda ilave edilmiştir. Sonuçlara göre, nem içeriği, proniozomların daha uzun süre depolama stabilitesini; elektron mikroskobu ve atomik kuvvet mikroskobu görüntülerinin taranması proniozomların yapısını ve küresel şekilli morfolojisini; *in vitro* salım çalışmaları kateşinlerin proniozomlardan sürekli salınımını; FTIR ve X-ışını kırınım spektrumları, kateşinler ve kapsülleyiciler arasında kimyasal etkileşimlerin olmadığını ortaya çıkarmıştır. Bu sonuçlara göre; proniozomların, organoleptik ve fizikokimyasal özelliklerinde gözle görülür olumsuz

değişiklikler olmaksızın süt ve yoğurdun zenginleştirilmesinin iyi bir araç olduğu ve böylece gastrointestinal kanalda kateşinlerin biyoyararlanım potansiyelini artırdığı çıkarımında bulunulmuştur (Shruthi, Pushpadass, Magdaline Eljeeva Emerald, Surendra Nathve Laxmana Naik, 2020).

Silva ve ark. (2021) çalışmalarında, guarana tohum ekstraktı (GSE) ve *Lactocaseibacillus paracasei* BGP-1'in birlikte kapsüllenmesinin, bakterilerin canlılığı ve fenolik bileşiklerin mikrokapsüllerin depolanması sırasında ve ayranışmasına eklenmesinden sonra stabilitesinin değişimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Potansiyel probiyotik ve GSE'nin birlikte kapsüllenmesi, fenolik bileşikleri yaklaşık %88 oranında kapsülleme ile korumuş ve depolama sırasında *L. paracasei* BGP-1'in canlılığını arttırmıştır. Kapsülasyon ayrıca, GSE'nin acı tadını maskeleymiştir. Sonuç olarak, mikrokapsül içeren yoğurtların duyuşal olarak genel kabul edilebilirliğinin, serbest GSE içerenlerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Pinto ve ark. (2012) çalışmalarında, mikrokapsüllenmiş *Bifidobacterium* BB-12 ilavesinin donmuş yoğurdun özellikleri üzerine etkilerini püskürterek kurutma enkapsülasyon yöntemi ile incelemiştir. Buna göre, dondurulmuş yoğurt örnekleri, *Bifidobacterium* BB-12 içeren mikrokapsüller ve farklı taşıyıcı ajan içerikleri (sulandırılmış yağsız süt ve inülin) ile üretilmiştir. Bu probiyotik kültürün canlılığı ve mikrokapsül ilavesinin 90 günlük depolama süresince donmuş yoğurdun kimyasal ve reolojik özellikleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Mikrokapsüller eklenen örneklerde bifidobakteri sayıları sabit kalırken, serbest bakteri eklenen donmuş yoğurtlarda 90 günde polamadans sonra yaklaşık bakteri sayısında %34'lük bir azalma görülmüştür. Mikrokapsüllerin eklenmesi, toplam katı içeriğini ve taşıma değerlerini (genleşme) arttırmıştır. Mikrokapsül eklenen numuneler daha fazla görünür viskoziteye sahiptir ve viskozite değerlerinde depolama süresinin sonunda daha büyük bir histerezis alanı göstermiştir. Sonuç olarak, enkapsüle inülin eklenmesi, depolama stabilitesine sahip probiyotik dondurulmuş yoğurt elde etmek için iyi bir yöntem olarak değerlendirilebileceği ortaya konulmuştur.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Proniozomal Toz Üretimi

Proniozom üretimi, bulamaç (slurry) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. 1:1M orandaki yüzey aktif madde/dodekanol ile fermente ZY sıvı ekstraktının (ZYE) liyofilize formundan (200 mg) oluşan karışım, 10 mL etanol içinde çözüldükten sonra yuvarlak tabanlı balona aktarılıp maltodekstrin (taşıyıcı) ilave edilmiştir. 35 °C ve 50 rpm (dakikadaki devir sayısı) proses koşullarında çözücü rotaryevaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra, kuru granüler yapıdaki proniozomlar elde edilmiştir. Elde edilen proniozom tozunun tamamen kuruması için 1 gece boyunca karanlıkta ortam sıcaklığında bekletilmiştir.

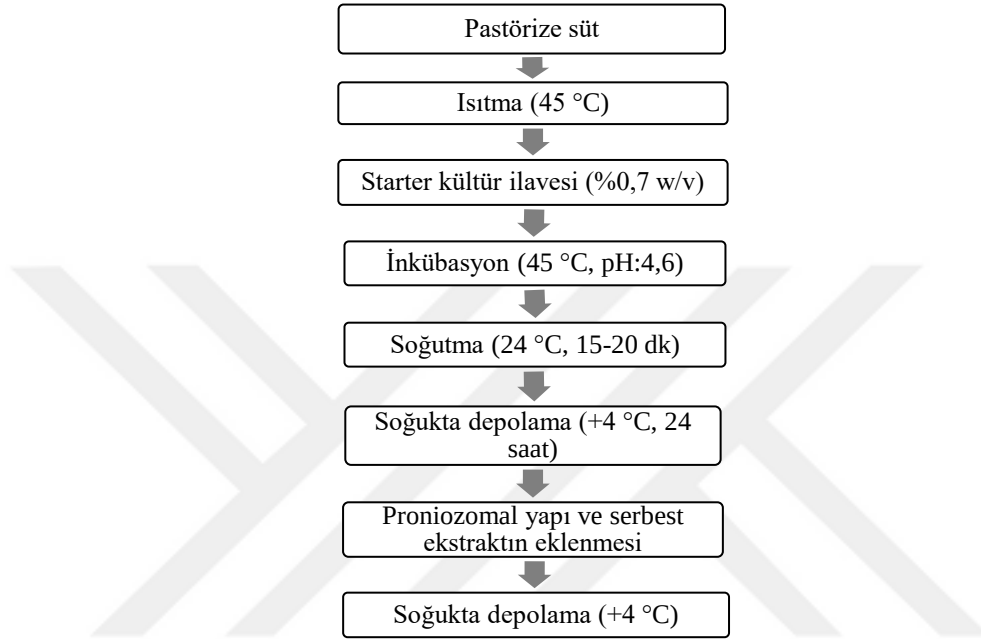


Şekil 3.1. Üretilen proniozomun balon içerisindeki görünümü

3.2. Yoğurt Numunelerinin Hazırlanması

Fermentasyondan sonra ZYE ve proniozomal ZYE ile zenginleştirilmiş yoğurt hazırlamak için, Şekil 3.1’de görüldüğü gibi 1 litre taze pastörize süt 45 °C’ye ulaşınca kadar ısıtılma işlemi tabii tutulmuş ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren 1 g (%0,7 w/v) yoğurt starter kültürü süte aşılanıp karıştırılmıştır. Aşılanan 1 litre süt 150 mL olacak şekilde 210 cc hacimli kavanozlara eşit bir şekilde aktarılıp 45°C’de inkübe edilmiş ve pH’sı 4,6’ya geldiğinde inkübasyona son verilmiştir. İnkübasyon sonunda örneklerin sıcaklığı oda sıcaklığına (24 °C) düşürülmüş ve her bir yoğurt örneği 4 °C’de bir gün depolanmıştır. Daha sonra hazırlanan yoğurtlara proniozomal ZYE

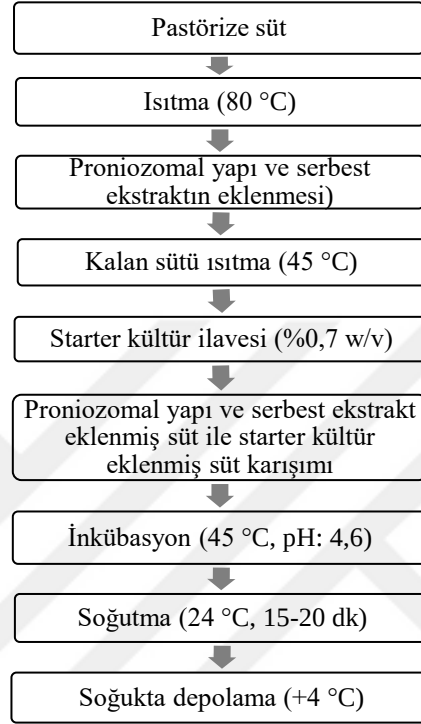
(0,1, 0,2, 0,3, 0,4 ve 0,5 g) ve serbest ZYE (16, 33, 50, 66 ve 83 mg) eklenerek farklı konsantrasyonlarda proniozomal ZYE ve ZYE içeren fermente süt ürünü (yoğurt) üretilmiştir. Proniozomal ZYE ve serbest ekstrakt içermeyen sade yoğurt örneği kontrol olarak tanımlanmıştır. Üretilen yoğurt örnekleri 30 saniye süreyle karıştırılarak pıhtısı parçalanmış ve deneyleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt üretim işlem basamakları.

Fermentasyondan önce hem ZYE hem de proniozomal ZYE ile zenginleştirilmiş yoğurt hazırlamak için, Şekil 3.2’de görüldüğü gibi 1 litre taze pastörize süttten 150 mL ayrılıp 80 °C’ye ulaşıncaya kadar ısıtılmalı ve 150 mL süt, 210 cc hacimli 5 farklı kavanoza 30 mL olacak şekilde aktarılmalıdır. Farklı konsantrasyonlarda fermente süt ürünü üretmek için 80°C’ye ulaşan bu sütlere proniozomal ZYE (0,1, 0,2, 0,3, 0,4 ve 0,5 g) ve serbest ZYE (16, 33, 50, 66 ve 83 mg) eklenerek iyice karıştırılmıştır. Proniozomal ZYE ve serbest ekstrakt içermeyen sade yoğurt örneği kontrol olarak tanımlanmıştır. Kalan süt 45 °C’ye ulaşıncaya kadar ısıtılmalı ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren 1 g (%0,7 w/v) yoğurt starter kültürü süte aşılanıp karıştırılmıştır. Aşılanan süt, 45 °C’ye soğutulan proniozom eklenmiş kapların

üzerine eklenerek yavaşça karıştırılmış, pH'sı 4,6'ya geldiğinde inkübasyona son verilmek üzere 45°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda örneklerin sıcaklığı oda sıcaklığına (24 °C) düşürülmüş ve her bir yoğurt örneği 4 °C'de bir gün depolanmıştır. Üretilen yoğurt örnekleri 30 saniye süreyle karıştırılarak pıhtısı parçalanmış ve deneyler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt üretim işlem basamakları.



Şekil 3.4. Fermentasyona bırakılan yoğurt numuneleri.

3.3. Antioksidan Aktivitenin DPPH ve ABTS Yöntemi ile Belirlenmesi

3.3.1. Örneklerin Hazırlanması

10 g yoğurda toplam 2,5 mL distile su ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra 1 M HCl eklenerek pH 4'e ayarlanmıştır. Yoğurt 45°C'de 10 dakika inkübe edilmiş ve ardından 7500 rpm'de 30 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant ayrılmış ve NaOH eklenerek pH 7'ye ayarlanmıştır. Tekrar 7500 rpm'de 4 °C'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve süpernatant ayrılmıştır (Tavakoli, Hosseini, Jafari ve Katouzian, 2018).

3.3.2. Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Antioksidan aktivite ölçümleri örneklerin ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonik asit)) ve DPPH (2,2-Difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil) hidrazil) radikallerini nötralize etme aktiviteleri ve oksijen radikallerini absorblama kapasitelerinin ölçülmesi ile belirlenmiştir. “Örneklerin hazırlanması” kısmında hazırlanan örnekten 250 µL örnek çözeltisi 3 mL DPPH'nin (60 µM) etanolik çözeltisine eklenmiş ve kuvvetlice karıştırılmıştır. Daha sonra ortam sıcaklığında 5 dakika bekletilerek 517 nm dalga boyunda absorpsiyonu

kaydedilmiştir(Shori vd., 2014). DPPH çözeltisinin başlangıç absorbans değeri $0,700 \pm 0,020$ olacak şekilde 60 µM metanol kullanılarak ayarlanmıştır.

ABTS yöntemi için Re vd. (1999) tarafından tanımlanan ABTS serbest radikallerinin bağlanma kapasitesi, 0,1 mL örnek çözeltisi ile 3,9 mL 7 mmol/L ABTS radikal çözeltisinin (2,5 mmol/L potasyum persülfat içerisinde hazırlanmış) verdiği reaksiyonun absorbans değerinde meydana gelen değişimi ölçerek 15 dakika boyunca 734 nm'de belirlenmiştir (AgilentCarry 60, China). ABTS radikal çözeltisinin başlangıç absorbans değeri, pH 7,4 olan 75 mmol/L fosfatlı tuz tamponu (150 mmol/L NaCl içeren) kullanılarak $0,700 \pm 0,020$ olarak ayarlanmıştır. Sonuçlar, troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC/mg) cinsinden gösterilmiştir.

3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik madde analizi, Saafi vd., (2009)'nın uyguladıkları yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. “Örneklerin hazırlanması” kısmında hazırlanan örneklerden 200 µl alınarak üzerine 1,5 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi 1/10 oranında saf su ile seyreltilmiş) ilave edilerek oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra %20'lik Na₂CO₃ ilave edilerek, 90 dakika renk oluşumu için beklenmiştir. Ardından UV spektrofotometre (AgilentCarry 60) ile 750 nm'de absorbans ölçümleri yapılarak sonuçlar gallik asit eşleniği olarak ifade edilmiştir.

3.5. Sinerezis (Su Salma) Özelliğinin Belirlenmesi

10 g yoğurt santrifüj tüpüne alınmış ve 4 °C'de 10 dakika 2500 rpm hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra supernatant kısmı alınarak tartılmış ve sonuçlar g ayrışan serum / g örnek olarak ifade edilmiştir (Farnsworth vd., 2006).

3.6. pH ve Titrasyon Asitliği Ölçümü

Oda sıcaklığında bulunan yoğurtların pH değeri pH 4 ve 7 tamponları ile kalibre edilen pH metre (Inolab pH 7110) kullanılarak belirlenmiştir. Yoğurt örneklerinin toplam asitliği, laktik asit cinsinden belirlenmiştir. 10 g yoğurt örneği üzerine 10 mL saf su ilave edilmiş ve

karışımın pH değeri 8,1'e gelene kadar 0,1 N NaOH ile titrasyon yapılmış ve sarf edilen 0,1 N NaOH değeri ile asitlik hesaplaması yapılmıştır (Vásquez-mazovd., 2019).

3.7. Renk Analizi

Yoğurt örneklerinin yüzey renk değerleri (L^* , a^* , b^*) Britannica'nın (1994), belirttiği yöntemle göre kolorimetre HunterLabScan (HunterAssociatesLaboratory, Inc., Reston, VA, USA) cihazı kullanılarak belirlendi. ' L^* ' değeri parlaklığı (beyazlık veya açıklık koyuluk); '+ a^* ' değeri kırmızı; '- a^* ' değeri yeşil; '+ b^* ' değeri sarı ve '- b^* ' değeri mavi renkleri temsil etmektedir.

3.8. Tekstür Analizi

Fonksiyonel yoğurdun sertliği ve yapışkanlığı Tekstür Analiz Cihazı (Model: TA.XT.2 Plus, Stable Microsystems) ve Texture Exponent Yazılımı kullanılarak karakterize edilmiştir. Geliştirilen fonksiyonel yoğurdun sıklığını ve kıvamını ölçmek için 5 kg'lık bir yük hücresi kullanan 35 mm'lik bir disk ve uzatma çubuğuna sahip bir Geri Ekstrüzyon Hücresi (A/BE) kullanılmıştır. Her numune için beş ölçüm, 5 kg'lık bir yük hücresine bağlı 5 mm çapında ve 150 mm uzunluğunda paslanmaz çelik prob adaptörü kullanılarak kaydedilmiştir. Standart boyutlu bir geri ekstrüzyon kabında bulunan numunelerin geometrik merkezindeki penetrasyon derinliği %30 gerinim ve penetrasyon hızı 1.0 mm/s olarak ayarlanmıştır. Numunelerin sertliği, penetrasyon için tepe sıkıştırma olarak belirlenmiştir. Maksimum negatif kuvvet, geri ekstrüzyon sırasında diskten akmaya karşı tutarlılığın/direncin göstergesi olarak alınmıştır. Tüm ölçümler 15 °C'de gerçekleştirilmiştir.

3.9. Mikrobiyolojik Analizler

Yoğurt örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), laktik asit bakteri (LAB), maya-küf ve koliform bakteri sayımları yapılmıştır. Sonuçlar log kob/g olarak hesaplanmıştır.

3.9.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı PCA (Plate Count Agar) kullanılarak dökme plak yöntemi (pour plate method) ile yapılmıştır. 10 g yoğurt örneği 10 mL saf su ile homojenize

edilip seyreltilerek petri kutularına eklenmiştir. Daha sonra üzerlerine PCA dökülmüş ve 30°C’de üç gün inkübasyona bırakılmıştır (Sanders, 2012).

3.9.2. Laktik Asit Bakteri Sayımı

Laktik asit bakterisi sayımı Sanders’in (2012) uyguladığı metoda göre, MRS Agar kullanılarak dökme plak yöntemi (pour plate method) ile yapılmıştır. 10 g yoğurt örneği 10 mL saf su ile homojenize edilip seyreltilerek petri kutularına eklenmiştir. Daha sonra üzerlerine MRS dökülmüş ve 30 °C’de üç gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.9.3. Toplam Maya - Küf Sayımı

Toplam maya - küf sayımı Sanders'in (2012) uyguladığı metoda göre, YGC (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) kullanılarak yayma plak yöntemi (spread plate method) ile yapılmıştır. 0,1 mL yoğurt örneği YGC içeren petri kutularına eklenerek spatül yardımı ile yayılmış ve 25 °C’de maya sayımı için hazırlanan petriler üç gün, küf sayımı için hazırlanan petriler beş gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.9.4. Koliform Bakteri Sayımı

Koliform bakteri sayımı için dökme plak yöntemi kullanılmıştır. 1 mL yoğurt örneği boş bir petri kutusuna eklenmiş ve üzerine Violet Red Bile Dextrose (VRBD) agar dökülmüştür. Sanders'e (2012) göre, agarın donması beklendikten sonra, üzerini kaplayacak kadar VRBD agar eklenmiş ve bir gün boyunca 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır.

3.10. *In vitro* Sindirim Sistemi Metodu İle Biyoaktif Bileşiklerin Sindirilebilirliğinin Tespiti

Proniozom ilave edilen yoğurt örneklerindeki fenolik bileşiklerin sindirilebilirliğinin saptanması amacıyla Brodorb ve ark., (2019)’nın uyguladığı *in vitro* sindirim yöntemi kullanılmıştır. Bu metotta sırasıyla örneklerin ağız, mide ve bağırsaktaki sindirimi simüle edilmiştir. Oral faz sindirim modelinde; 5 mL örnek 5 mL simüle tükürük sıvısı ile 50:50 (v/v) oranında olacak şekilde karıştırılmıştır. Simüle tükürük sıvısı stok çözeltisi hazırlanırken 15,1 mM KCl, 3,7 mM KH₂PO₄, 13,6 mM NaHCO₃, 0,15 mM MgCl₂(H₂O)₆, 0,06 mM

(NH₄)₂CO₃ eklendi ve insan tükürüğünden üretilmiş α -amilaz enzimi (75 U/mL) karışımı içerisinde 2 dakika boyunca pH 7.0'de 37°C'de sindirime uğratılmıştır. Oral faz sindiriminden sonra gastrik faz sindirimine geçilmiştir. Oral faz sindiriminden alınan örnekler 50:5 (v/v) olacak şekilde simüle-gastrik sıvısı ile karıştırılmıştır. Simüle-gastrik sıvısının stok çözeltisi hazırlanırken 6,9 mM KCl, 0,9 mM KH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 47,2 mM NaCl, 0,1 mM MgCl₂(H₂O)₆, 0,5 mM (NH₄)₂CO₃ eklenmiş ve 1 M HCl eklenerek pH 3,0'de pepsin (2000 U/mL) ile 2 saat boyunca sindirime uğratılmıştır. Stok çözeltiyi seyreltmek için ultra saf su ilave edilmiştir. İnce bağırsak sindirim modelinde, örnekler simüle-intestinal sıvısı ile 50:5 (v/v) oranında olacak şekilde hazırlanmıştır. Simüle intestinal sıvısı stok çözeltisi hazırlanırken 6,8 mM KCl, 0,8 mM KH₂PO₄, 85 mM NaHCO₃, 38,4 mM NaCl, 0,33 mM MgCl₂(H₂O)₆, 0,5 mM (NH₄)₂CO₃ eklenmiş ve 1M NaOH kullanılarak karışımın pH'ı 7,'ye ayarlanıp enzim ekstraktı (100 U/mL pankreatin ve 10 mmol/L safra) karışımı ile 2 saat boyunca 1M NaOH kullanılarak karışımın pH'ı 7,'ye ayarlanıp sindirime uğratıldı. İşlem sonrasında ortama 1 mmol/L AEBSF proteaz inhibitörü ilave edilerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

3.11. Duyusal Değerlendirme

Yoğurt örneklerinin duyusal analizi, 8 kişilik panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Örnekler rastgele seçilen 3 basamaklı sayılar ile kodlanmıştır. Duyusal değerlendirmeye başlamadan önce ve her bir örnek değerlendirmesi arasında ağız tadını nötrlemek amacıyla panelistlere su verilmiştir. Panelistler yoğurtların renk, koku (kendine has hoş kokuda), asitlik/ekşilik, pişmiş tat, oksitlenmiş, dış görünüş (düzgün renk dağılımı, pürüzsüz yapı), kıvam (yüzeysel ve görsel kıvam, sağlam dayanıklı), doku, tat (kendine has hafif ekşimsi tat) ve genel izlenim özelliklerini hedonik skala yöntemi ile 0-9 puan aralığında değerlendirmişlerdir. Duyusal analiz, kontrol örneği, serbest ekstrakt ve proniozomlar ile kaplanan hidroksitirozol içeriği zenginleştirilmiş ekstrakt ilave edilmiş yoğurt örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Duyusal değerlendirme yapılırken kullanılan analiz formu aşağıda verilmiştir:

Proniozomal Zeytin Yaprağı Ekstraktı İlave Edilmiş Yoğurt Duyusal Değerlendirme Formu

Panelistin Adı-Soyadı:
Panelistin Yaşı:
Tarih:
Ürün Kodu:

	En Düşük	En Yüksek
Renk	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Koku	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Asitlik/Ekşilik	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Pişmiş Tat	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Oksitlenmiş	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Görünüş	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Kıvam	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Doku	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Tat	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	
Genel İzlenim	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9	

Not:.....
.....
.....

Şekil 3.5. Duyusal değerlendirme formu.

3.12. Aroma Maddeleri Analizi

Uçucu bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi GC-FID (7890B; Agilent Technologies) ile gerçekleştirilmiştir. Üç gram yoğurt örneği tartılmıştır ve 10 mL'lik bir vialle yerleştirilmiştir. Örneklerdeki uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME) kullanılmıştır. SPME metodu çözücü kullanılmamasına gerek kalmayan bir yöntemdir. Vial içerisine konulan örneklerin tepe boşluğunda oluşan uçucu aroma bileşenleri GC/MS'e enjekte edilmiştir. Burada yoğurttaki bileşenler uçuculuğuna göre ayrılmakta ve kütle spektrometresinde iyonlaşıp kütle/yük oranına göre ayrılmaktadırlar (Öztürkoğlu-Budak, 2018). Denge süresi, ekstraksiyon ve enjeksiyon adımları otomatik bir enjeksiyon modülü tarafından gerçekleştirilmiştir (GC Enjektör 80; Agilent). Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) programı ayarlanarak; vial, tepe boşluğunun dengeye ulaşması için 30°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Analiz için 75 µm DVB/CAR/PDMS

ile kaplanmış SPME fiber (Stableflex 2 cm) SupelcoInc. firmasından satın alınmışve kullanılmıştır. NIST11, Wiley7 ve Flavor kütüphaneleri bileşiklerin tanımlanması için kullanılmıştır (Kelebek, Kesen, Sonmezdag, Cetiner, Kola ve Selli, 2018). Her bir aroma bileşiğinin miktar tayini, iç standart olarak 4-nonanol (2 µL) kullanılarak yapılmıştır. Aroma bileşiklerinin ayrıştırılması DB-Wax kolon (30 m × 250 µm × 0,25 µm, J&W Scientific-Folsom) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40°C'de 4 dakika bekletildikten sonra dakikada 4°C arttırılarak 240°C'ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Helyum akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmıştır (Selli, Kelebek, Kesen ve Sonmezdag, 2018).

3.13. İstatistiksel Analizler

Analizlerde elde edilen veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Verilerin analizinde tek yönlü varyans analiz (ANOVA) yöntemi Minitab 17(Minitab Inc., State College, ABD) programı kullanılarak uygulanmış ve ortalama değerler arasındaki farklılıklar %95 güven aralığında değerlendirilerekFisher'ın en küçük anlamlı farkyöntemine göre karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yoğurt Örneklerinde Genel Bileşim Analizleri

4.1.1. Yoğurt örneklerinde pH ve asitlik

Fermente edildikten sonra ve fermente edilmeden önce proniozomal ekstrakt ve serbest ekstrakt eklenen yoğurtların pH ve asitlik değerleri Tablo 4.1’de ve Tablo 4.2’de gösterilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeye göre fermentasyon sonrası proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtların pH değerleri arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Fakat asitlik değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlenmiştir ($P<0,05$). Fermentasyon sonrası serbest ekstrakt eklenen örneklerde pH ve asitlik değerleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Fermentasyon öncesi proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtların pH ve asitlik değerleri arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Ancak serbest ekstrakt eklenen yoğurtların pH ve asitlik değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlenmiştir ($P<0,05$). Sonuçlara göre; her iki üretimde de proniozom ve ekstrakt içeren yoğurtların pH ve asitlik değerlerinin miktarlara göre farklılık göstermediği belirlenmiştir. Her iki üretimin de pH değerlerine bakıldığında fermentasyondan sonra ve önce proniozomal yapı eklenen yoğurt örneklerinin pH değerleri, ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin pH değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Bu durum, proniozomal yapının oluşturulması için kullanılan materyallerden kaynaklanıyor olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Yapılan bir çalışmada, oleuropein ve zeytin fenolikleri (tirozol ve hidroksitirozol) eklenen süt ve yoğurdun pH ve asitliği açısından benzer değerler gösterdiği ve pH değerlerinin 4,30-4,40 aralığında bulunduğu bildirilmiştir (Zoidou vd., 2014). Barkallah vd.’nin (2017) yaptıkları çalışmada, *Spirulina platensis* takviyesinin yoğurdun fermentasyon ve depolama sırasında fizikokimyasal, yapısal özelliklerine, antioksidan kapasitesine ve duyuşal özelliklerine etkisi incelenmiş ve çalışma sonucuna göre %0,25, %0,5, %0,75 ve %1’lik numuneler arasında titre edilebilir asitlik açısından önemli bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Fitosterolle zenginleştirilmiş yoğurdun depolama sırasında reolojik ve fiziksel özelliklerinin incelendiği başka bir çalışmada, 28 günlük depolama sırasında yoğurt pH’ında düşme ve yükselme eğilimi olduğu bildirilmiştir (Izadi ve ark., 2015). Yoğurtta depolama sırasında pH’ın düşmesi, laktoz fermentasyonu nedeniyle laktik asit üreten yoğurt starter

kültürlerinin metabolik aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Mikroorganizmalar, organik asitler üretmek için laktozu tüketerek pH'nı düşmesine neden olabilmektedir. Laktoz kaynakları tükendiğinde mikroorganizmalar pH'ı yükseltmek için yoğurttaki proteini tüketmektedirler (Izadi, Nasirpour, Garoosi ve Tamjidi, 2015).

Tablo 4.1. Fermentasyon sonrası farklı miktarlarda proniozom eklenen yoğurtların fizikokimyasal analiz sonuçları

Numuneler	pH	Asitlik (%)	Sinerezis (%)	L*	a*	b*
K	4,02 ± 0,11	0,33 ± 0,002 ^c	37,0 ± 0,8 ^a	95,5 ± 0,05 ^e	-1,92 ± 0,00 ^a	6,25 ± 0,01 ^f
P01	4,13 ± 0,12	0,34 ± 0,004 ^{bc}	36,0 ± 0,4 ^{ab}	96,2 ± 0,01 ^c	-1,95 ± 0,00 ^d	6,79 ± 0,01 ^e
P02	4,18 ± 0,1	0,33 ± 0,003 ^{bc}	36,1 ± 0,38 ^{ab}	96,4 ± 0,03 ^a	-1,94 ± 0,005 ^d	6,98 ± 0,00 ^c
P03	4,11 ± 0,07	0,34 ± 0,003 ^a	35,4 ± 0,63 ^{bc}	96,2 ± 0,04 ^c	-1,94 ± 0,00 ^c	6,89 ± 0,005 ^d
P04	4,11 ± 0,06	0,34 ± 0,003 ^{abc}	34,6 ± 1,01 ^{cd}	96,3 ± 0,05 ^b	-1,93 ± 0,005 ^b	7,08 ± 0,005 ^b
P05	4,17 ± 0,005	0,34 ± 0,004 ^{ab}	33,5 ± 0,88 ^d	96,1 ± 0,03 ^d	-1,93 ± 0,00 ^b	7,27 ± 0,01 ^a
K	4,46 ± 0,03 ^c	0,33 ± 0,001 ^c	41,7 ± 0,72 ^a	95,3 ± 0,02 ^c	-2,06 ± 0,01	6,8 ± 0,12 ^d
E01	4,41 ± 0,02 ^d	0,35 ± 0,005 ^a	40,1 ± 0,51 ^b	95,3 ± 0,09 ^c	-2,06 ± 0,02	6,83 ± 0,08 ^d
E02	4,52 ± 0,01 ^a	0,33 ± 0,00 ^c	40,2 ± 0,66 ^b	96,0 ± 0,11 ^a	-2,06 ± 0,02	7,57 ± 0,08 ^b
E03	4,5 ± 0,01 ^{ab}	0,33 ± 0,001 ^c	39,6 ± 0,55 ^b	95,4 ± 0,1 ^c	-2,08 ± 0,01	7,15 ± 0,06 ^c
E04	4,48 ± 0,00 ^{bc}	0,34 ± 0,002 ^b	40,1 ± 0,27 ^b	95,8 ± 0,1 ^b	-2,06 ± 0,01	7,72 ± 0,06 ^a
E05	4,47 ± 0,01 ^{bc}	0,33 ± 0,001 ^c	39,6 ± 0,78 ^b	95,7 ± 0,06 ^b	-2,06 ± 0,01	7,73 ± 0,05 ^a

^{a-e}Sütun içerisinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Kontrol yoğurt örneği, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt E: Ekstrakt için kontrol yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, Proniozom eklenen ve serbest ekstrakt eklenen örnekler istatistiksel olarak ayrı değerlendirilmiştir.

Tablo 4.2. Fermentasyon öncesi farklı miktarlarda proniozom eklenen yoğurtların fizikokimyasal analiz sonuçları

Numuneler	pH	Asitlik (%)	Sinerezis (%)	L*	a*	b*
K	4,10±0,005	0,41±0,02	34,41± 1,27 ^a	94,37± 0,46	-1,85 ± 0,01 ^a	5,65 ± 0,03 ^f
P01	4,08±0,02	0,40± 0,008	33,30± 0,82 ^a	94,99± 0,35	-1,94 ± 0,005 ^b	6,4 ± 0,01 ^c
P02	4,09±0,02	0,42± 0,01	34,11± 0,85 ^a	95,20± 0,14	-1,94 ± 0,005 ^b	7 ± 0,01 ^a
P03	4,11±0,005	0,40± 0,01	33,72± 0,60 ^a	94,88± 0,48	-1,94 ± 0,005 ^b	6,24 ± 0,005 ^e
P04	4,09±0,005	0,41± 0,006	33,74± 0,34 ^a	95,19± 0,35	-1,94 ± 2,71 ^b	6,92 ± 0,02 ^b
P05	4,09±0,005	0,39± 0,006	31,64±0,55 ^b	95,19± 0,67	-1,94 ± 0,005 ^b	6,34 ± 0,01 ^d
K	4,23 ± 0,005	0,53 ± 0,004 ^c	30,34 ± 1,40	95,36 ± 0,02 ^c	-2,06± 0,02	6,8 ± 0,13 ^d
E01	4,27 ± 0,03	0,51± 0,005 ^d	30,08± 0,35	95,39± 0,1 ^c	-2,06± 0,03	6,83± 0,09 ^d
E02	4,22 ± 0,03	0,53± 0,001 ^{bc}	29,54± 1,17	96,00± 0,11 ^a	-2,06± 0,02	7,57± 0,08 ^b
E03	4,23 ± 0,07	0,54 ± 0,01 ^{bc}	29,26 ± 0,70	95,45± 0,10 ^c	-2,08 ± 0,01	7,15± 0,06 ^c
E04	4,20 ± 0,06	0,5 ± 0,01 ^b	29,89 ± 0,56	95,83 ± 0,10 ^b	-2,06± 0,01	7,72± 0,07 ^a
E05	4,2 ± 0,06	0,56± 0,006 ^a	29,06 ± 0,60	95,70± 0,06 ^b	-2,06± 0,01	7,73± 0,05 ^a

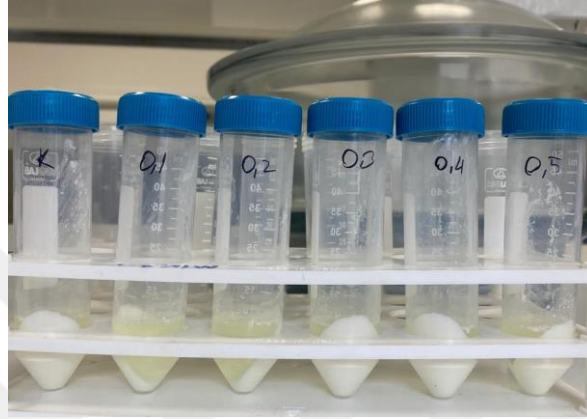
^{a-c}Sütun içerisinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Kontrol yoğurt örneği, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt E: Ekstrakt için kontrol yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, Proniozom eklenen ve serbest ekstrakt eklenen örnekler istatistiksel olarak ayrı değerlendirilmiştir.

4.1.2. Sinerezis analizleri

Yoğurdun genel kalite analizlerinden biri de sinerezistir. Yoğurdun depolanması sırasında faz ayırımının engellenmesi ve sinerezis oranının düşürülmesi süt endüstrisindeki ana hedeflerden biridir. Sinerezis esas olarak yoğurdun protein ağındaki modifikasyon ve bozulma nedeniyle oluşur. Yoğurdun sinerezisini etkileyen diğer faktörler arasında kesme işlemi, yapıdaki büzülme ve depolama sırasında peynir altı suyu proteinlerinin kazein ağına bağlanma enerjisiindeki azalma yer alır (Sigdel vd., 2018 ; Zhong vd., 2018).

Tablo 4.1 ve 4.2’de değişen miktarlarda, fermentasyon sonrası proniozomal ekstrakt ve serbest formda ekstrakt ilave edilen yoğurtların sinerezis (%) değerleri verilmiştir. Sinerezis değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, fermentasyon sonrası proniozom eklenen örnekler arasında önemli bir fark olduğu belirlenmiş, ekstrakt eklenen örnekler arasında ise kontrol örneği dışındaki örneklerde önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Sade yoğurt ve değişen miktarlarda (0,1 g - 0,5 g) proniozomal ekstrakt ile zenginleştirilen yoğurtların sinerezis değerleri %33,5 - %37 arasında değişmiştir. Tablolarda görüldüğü gibi, yoğurt numunesinde, serbest ekstrakt ve nanokapsüllenmiş ekstrakt eklenmesiyle sinerezis oranı kontrol numunesine göre azalmıştır. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen örneklerin sinerezis değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Yoğurdun toplam kuru madde artışına bağlı olarak, su tutma kapasitesi artar ve yoğurdun gözenekliliği azalır, bu da yoğurdun jel ağıının stabilitesini artırır ve sinerezis oranını en aza indirir (Ghorbanzade vd., 2017). Ayrıca bu çalışmada, artan miktarlarda proniozom ilave edilen yoğurtlardaki sinerezis düşüşü daha belirgin olarak belirlenmiştir. Burada maltodekstrin varlığından dolayı proniozom ilavesi ile suyun emilimi hızlandırılmakta ve dolayısıyla sinerezis süreci daha fazla geciktirilmektedir. Atık tarçın yapraklarının yoğurtta potansiyel kullanımının incelendiği bir çalışmada, atık tarçın yaprağı ekstraktını kapsüllemenin yoğurdun stabilitesini arttırdığı kanıtlanmış, bu sayede enkapsüle ekstrakt ilave edilen yoğurt sinerezis derecesi en düşük seviyede olmuştur (Tang vd., 2022). Feng vd. (2023), yüksek içerikli çay polifenollerini (CA/CHBs-e HCTP) kapsülleyen kalsiyum aljinat/kollajen hidrolizat taneciklerinin soğuk depolama sırasında yoğurdun kalite özellikleri üzerine etkisini incelemiş ve sonuçlar, CA/CHBs-e HCTP'lerin eklenmesinin, yoğurdun su tutma kapasitesini kontrol yoğurduyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalttığını ve CA/CHBs-e-HCTP'lerin 0'dan 15'e (g/100 g)

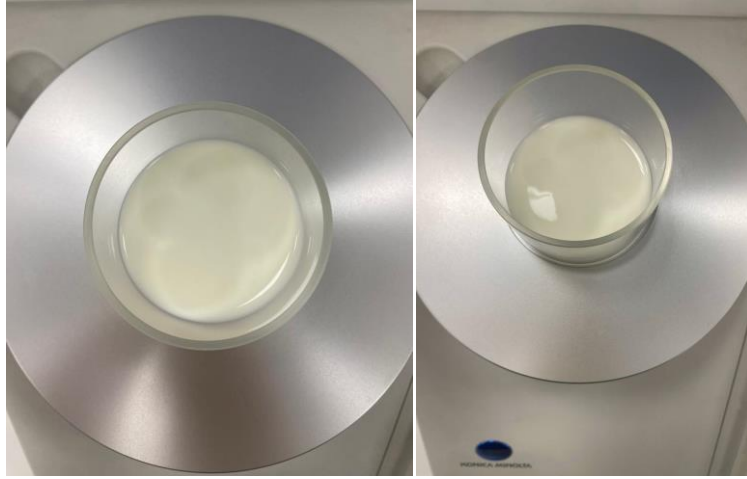
artmasının sinerezisi daha fazla azalttığını göstermiştir. Olabiran vd. (2023), yüksek hızlı homojenleştirici kullanılarak kapsüllenen fesleğen yaprağı (*Ocimum gratissimum*) esansiyel yağ mikrokapsülleri içeren fonksiyonel soya bazlı yoğurdun kalite parametrelerini incelemişler ve sinerezis derecesine bakıldığında kontrol örneğinde (mikrokapsülsüz soya bazlı yoğurt) en yüksek değeri bulmuşlardır. Fesleğen yaprağı esansiyel yağ mikrokapsülünün soya bazlı yoğurtlardaki sinerezis derecesi üzerinde azaltıcı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Sinerezis analizi sonrası yoğurtların su salması görüntüsü.

4.1.3. Renk analizi

Bu çalışmada, L^* 'nin yüksek değerleri parlak örnekleri gösterdiğinden, yoğurt örneklerinin açıklığını/beyazlığını görüntü işleme yoluyla incelemek için L^* değerleri karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel analizler, kontrol ve proniozomal ekstrakt ile zenginleştirilen yoğurtlar arasında, L^* değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını göstermiştir ($P > 0,05$). García-Perez ve ark. (2005) yaptığı çalışmaya göre, renk indeksleri pH ile ilişkilidir, ve pH'nın azalması yoğurdun L^* indeksinde azalmaya yol açabilir. Tablo 4.1 ve 4.2'de proniozom ve serbest ekstrakt içeren yoğurt numunelerindeki L^* indeksi ve pH değerleri kontrol numunesine göre farklılık göstermemiş ve bunu doğrulamıştır. Kitosan kaplı lipozomlar ile enkapsüle edilmiş vişne ekstraktı içeren karıştırılmış tip yoğurtların depolama süresine göre renk analizlerinin yapıldığı başka bir çalışmada, depolamanın 14. gününe kadar renk parametreleri önemli ölçüde değişmemiş ancak depolama süresinin son haftasında tüm yoğurt örneklerinde bu parametreler önemli ölçüde azalmıştır (Akgün, Gültekin-Özgüven, Yüce-tepe, Altın, Gibis, Weiss ve Özçelik, 2020).



Şekil 4.2. L*, a* ve b* indekslerinin tespiti için bazı yoğurt numunelerinin çekilmiş görüntüleri.

4.1.4. Tekstür analizi

Fermentasyon sonrası farklı konsantrasyonlarda proniozomal ZYE (0,1 g - 0,5 g) ve eşdeğeri, serbest formda ZYE (16 mg - 83 mg) ilave edilen yoğurtlar ile kontrol (sade) yoğurdun incelenen dokusal parametre değerleri (sertlik ve yapışkanlık) Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de özetlenmiştir. Fermentasyon öncesi farklı konsantrasyonlarda proniozomal ZYE (0,1 g - 0,5 g) ve eşdeğeri, serbest formda ZYE (16 mg - 83 mg) ilave edilen yoğurtlar ise Tablo 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir. Proniozom ve ekstraktların eklenmesinden kaynaklanan herhangi bir dokusal farklılığın mevcut olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan tekstür analiz sonucuna göre, fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt içeren yoğurtların, proniozom ve ekstrakt konsantrasyonları arttıkça, kontrol yoğurda göre sertlik ve yapışkanlık değerleri azalmıştır. Fermentasyon öncesi yoğurtlarda ise proniozom ve ekstrakt konsantrasyonları arttıkça kontrol normal yoğurda göre sertlik ve yapışkanlık açısından düzensiz bir artış ve azalış gözlenmiştir. Bunun, fermentasyon öncesi yoğurtlarda, üretim sırasında süte daha yüksek sıcaklık uygulanarak proniozomal ekstrakt ve serbest ekstraktın eklenmesiyle bu ekstraktların süt içerisindeki çözünme farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak hem fermentasyon sonrası hem de fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlardaki bu farklılıklar nihai üründe tüketici açısından kolaylıkla görülemeyebilir. Çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilen, resveratrol içeren niozomlarla zenginleştirilmiş

yoğurt için yapılan önceki bir çalışmada da kontrol yoğurda göre kapsüllenmiş niozomlar eklenen yoğurtların tekstür analizi sonuçlarında azalma gözlenmiştir (Pando, Beltran ve diğerleri, 2015). Demir ile kapsüllenen niozomlar ve bunların yoğurt takviyesi için potansiyel uygulamalarının incelendiği başka bir çalışmada ise demirle kapsüllenmiş iki farklı niozom formülasyonu ile zenginleştirilmiş yoğurtlar, kontrol yoğurdu ve kapsüllenmemiş demir içeren yoğurtla karşılaştırıldığında sertlikte hafif bir artış göstermiş ancak tüketici açısından fark edilir düzeyde olmadığı öngörülmüştür (Gutiérrez vd., 2016).

Tablo 4.3. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.

Numuneler	Sertlik (gF)	Yapışkanlık (gF)
K	15,08 ± 0,26 ^a	-11,74 ± 0,16 ^d
P01	14,88 ± 0,20 ^{ab}	-11,44 ± 0,31 ^d
P02	14,52 ± 0,36 ^{ab}	-10,75 ± 0,12 ^c
P03	14,22 ± 0,41 ^b	-10,82 ± 0,24 ^c
P04	12,33 ± 0,47 ^d	-8,75 ± 0,19 ^a
P05	13,32 ± 0,47 ^c	-9,34 ± 0,07 ^b

^{a-e} Sütun içerisinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Tablo 4.4. Fermentasyon sonrası ekstrakt eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.

Numuneler	Sertlik (gF)	Yapışkanlık (gF)
K	16,59 ± 0,55	-11,99 ± 0,31
E01	17,63 ± 0,51	-12,73 ± 0,53
E02	17,54 ± 0,60	-12,49 ± 0,45
E03	17,74 ± 0,68	-12,94 ± 0,17
E04	16,99 ± 0,60	-12,23 ± 0,32
E05	17,64 ± 0,55	-12,64 ± 0,14

İstatistiksel açıdan önemli bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$).K: Ekstrakt için kontrol yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt

Tablo 4.5. Fermentasyon öncesi proniozom eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.

Numuneler	Sertlik (gF)	Yapışkanlık (gF)
K	13,26 ± 0,22	-9,76 ± 0,40
P01	13,45 ± 0,49	-4,78 ± 0,49
P02	12,65 ± 1,14	-6,50 ± 5,74
P03	12,99 ± 0,42	-9,50 ± 0,13
P04	13,12 ± 0,22	-9,55 ± 0,13
P05	13,79 ± 0,70	-10,05 ± 0,50

İstatistiksel açıdan önemli bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$).K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Tablo 4.6. Fermentasyon öncesi ekstrakt eklenen yoğurtların sertlik ve yapışkanlık değerleri.

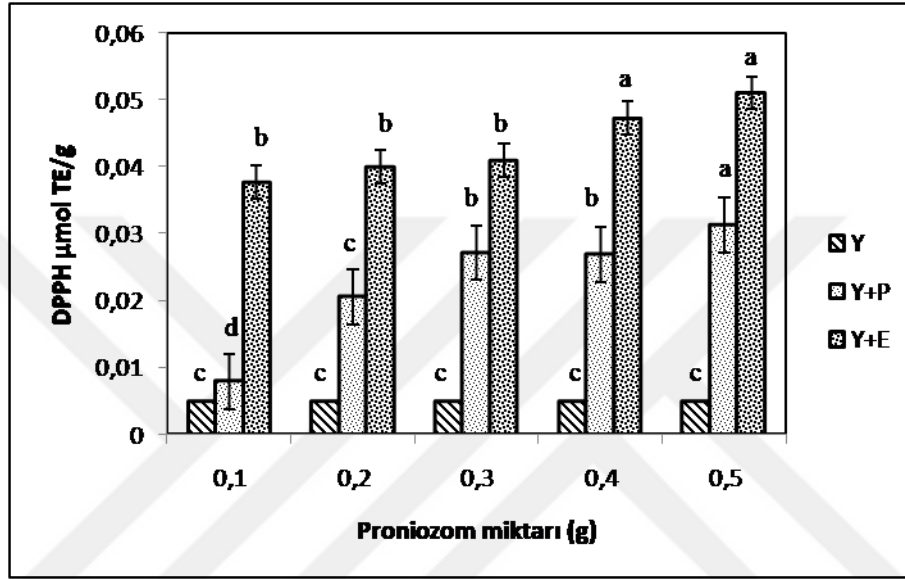
Numuneler	Sertlik (gF)	Yapışkanlık (gF)
K	12,89 ± 0,70 ^b	-5,44 ± 7,1
E01	9,85 ± 0,72 ^c	0,35 ± 8,00
E02	12,29 ± 0,81 ^b	-5,47 ± 5,00
E03	13,13 ± 0,23 ^{ab}	-9,23 ± 0,57
E04	12,99 ± 0,36 ^b	-9,35 ± 0,27
E05	14,08 ± 0,26 ^a	-10,29 ± 0,18

^{a-e} Sütun içerisinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Ekstrakt için kontrol yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt

4.1.5. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi

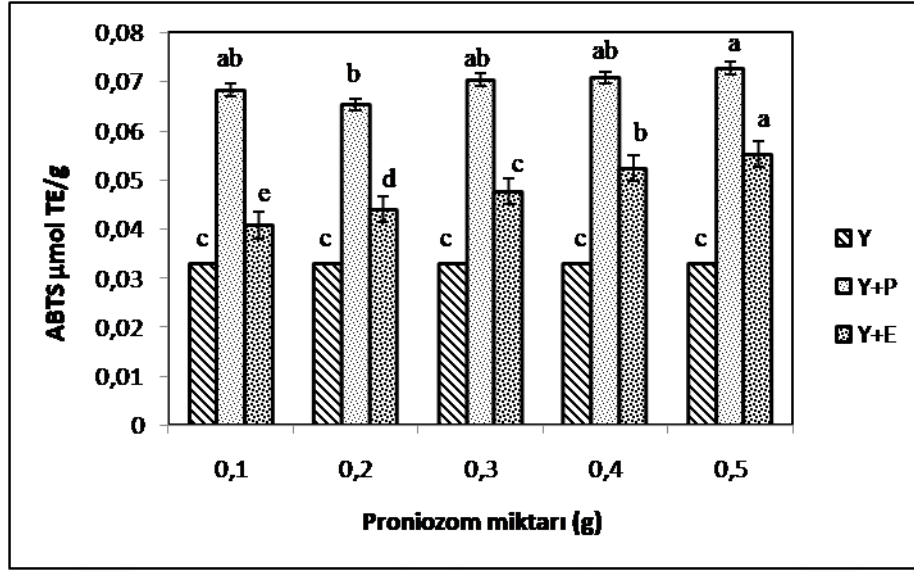
Fermentasyon öncesi ve sonrası farklı miktarlarda proniozom eklenen yoğurtların antioksidan kapasiteleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. DPPH ile antioksidan kapasite analizi kontrol yoğurt örneği, proniozom eklenen yoğurt örneği ve ekstrakt eklenen yoğurt örneği kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede fermentasyon öncesi ve sonrası proniozom eklenen yoğurt örnekleri arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Fermentasyon sonrası DPPH antioksidan kapasite analizi sonuçları Şekil 4.3’de, ABTS antioksidan kapasite analizi sonuçları ise Şekil 4.4’de verilmiştir. Fermentasyon sonrası ABTS yöntemi ile yoğurt örneklerinin antioksidan kapasite analizi sonuçları incelendiğinde proniozom eklenen örneklerin antioksidan kapasite sonuçları daha yüksek bulunmuştur. Proniozom eklenen örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). En yüksek antioksidan kapasite değeri 0,5 g (P05) proniozom eklenen yoğurt örneğinde elde edilmiştir. Antioksidan kapasite analizleri sonucunda DPPH ve ABTS yöntemleri arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. DPPH yönteminde ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin antioksidan kapasitesi daha yüksek çıkarken, ABTS analizinde proniozom eklenen örneklerin antioksidan kapasitesi daha yüksek

bulunmuştur. ABTS analizi mavi/yeşil ABTS radikalının oluşumuna dayanmakta ve lipofilik ve hidrofilik antioksidan sistemlerine uygulanabilmektedir. DPPH analizinde organik ortamda çözünmüş radikal kullanılmakta ve bu nedenle hidrofobik sistemlere daha uygulanabilir bir analizi temsil etmektedir (Kim vd., 2002). Burada, elde edilen sonuçların, farklı yöntemler kullanılarak uygulanan DPPH ve ABTS antioksidan kapasite analizlerinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.



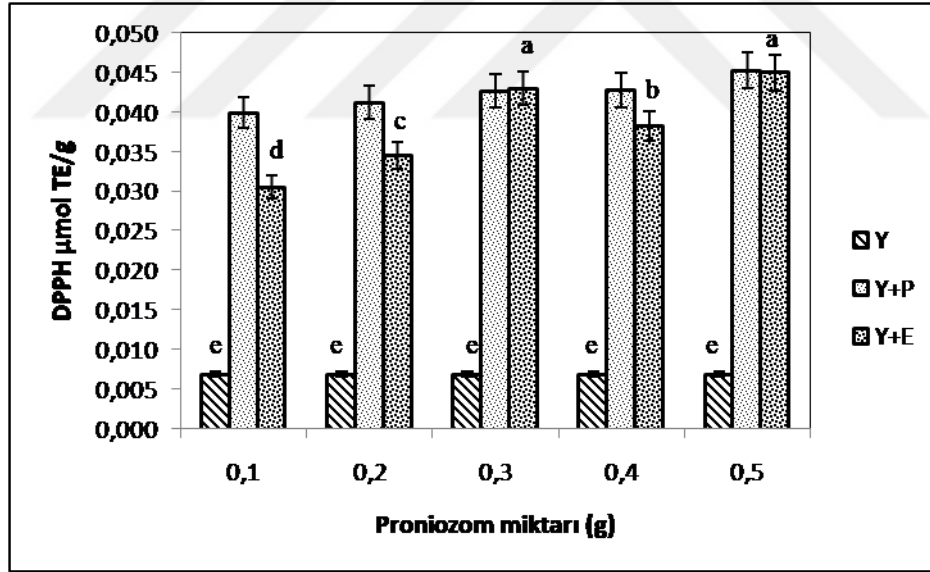
^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.3. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin DPPH ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.



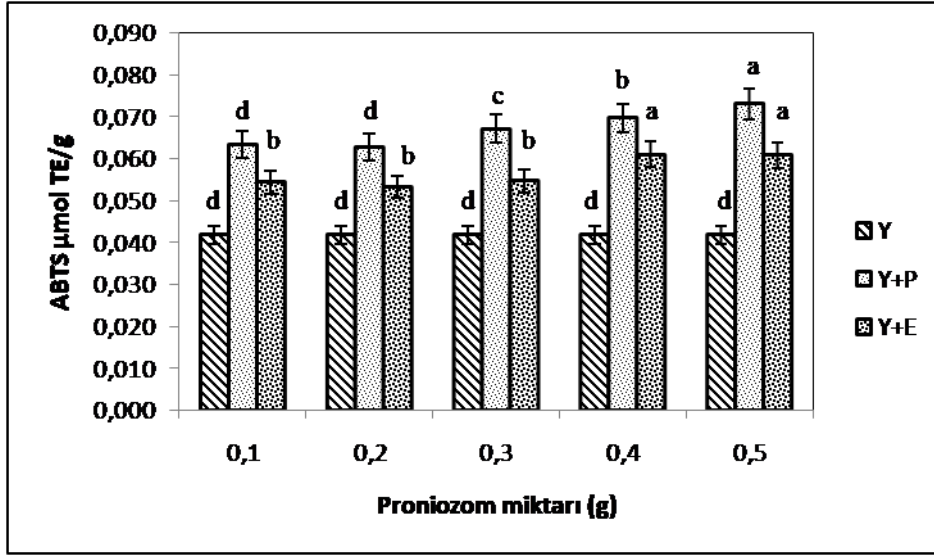
^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.4. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin ABTS ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.5. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin DPPH ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.6. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin ABTS ile antioksidan kapasite analizi sonuçları.

Fermentasyon öncesi yoğurt örneklerine bakıldığında, DPPH antioksidan kapasite analizi sonuçları Şekil 4.5, ABTS antioksidan kapasite analizi sonuçları ise Şekil 4.6'da verilmiştir. Bulgulara göre, her iki yöntemde de proniozom eklenen yoğurt örneklerinin antioksidan kapasitesi daha yüksek bulunmuştur. Burada, fermentasyon sonrası eklenen proniozomlu yoğurtların aksine fermentasyon öncesi eklenen proniozomlu yoğurtlarda DPPH antioksidan kapasite daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, fermentasyon öncesi yoğurtlara, üretim sırasında süte daha yüksek sıcaklık uygulandıktan sonra proniozomal formülasyonun eklenmesiyle süt içerisinde daha iyi çözünmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

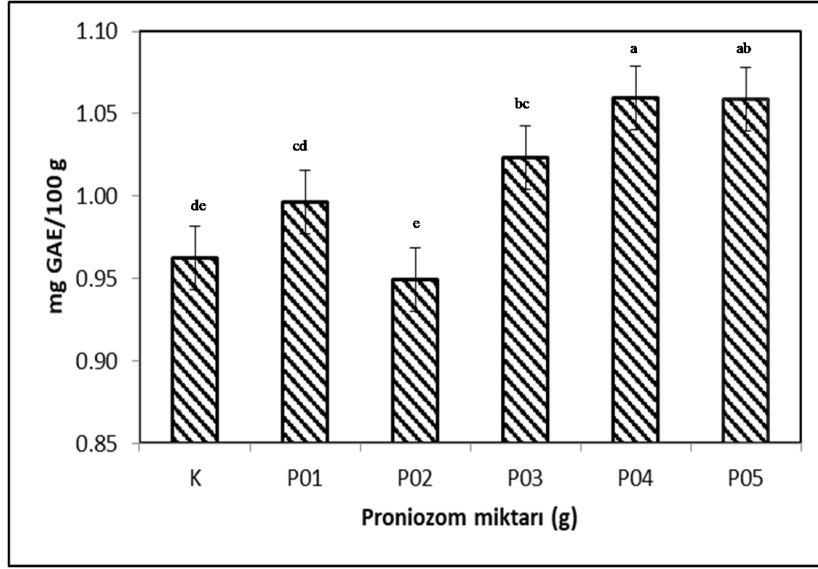
Yapılan bir çalışmada, antioksidanca zengin meyve, sebze ve içecek örnekleri kullanılarak ABTS ve DPPH yöntemlerinin etkinliği karşılaştırılmış, ABTS yönteminin renkli ve hidrofilik örneklerin antioksidan kapasitesini daha iyi yansıttığı belirtilmiştir (Floegel, Kim, Chung, Koo ve Chun, 2011). El Said vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, kapsüllenmiş domateş ekstraktı fenoliklerinin yoğurt örneklerine eklenmesi sonucunda kontrol yoğurduna benzer karakteristik özelliklerine sahip fakat daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip yoğurt elde edildiği bildirilmiştir. Lipozomal zeytin yaprağı fenolikleriyle zenginleştirilmiş yoğurdun fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada, serbest ve

kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktı içeren yoğurt örneklerinin antioksidan aktivitesinin sade yoğurttan oldukça yüksek olduğu saptanmıştır (Tavakoli vd., 2018). Fermantasyondan önce ve sonra ilave edilen zeytin yaprağı ve ekstraktı ile zenginleştirilmiş yoğurt kontrol örneklerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca, fermentasyon sonrası zeytin yaprağı ve ekstraktı ile zenginleştirilmiş yoğurt örneklerinin antioksidan aktivite değerleri, fermentasyondan önce zenginleştirilen örneklere göre daha yüksek bulunmuştur (Pourghorban, Yadegarian, Jalili ve Rashidi, 2021). Yapılan bir başka çalışmada, en yüksek antioksidan aktivite liyofilize mikrokapsüllenmiş nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş yoğurt örneğinde, en düşük ise sade yoğurtta belirlenmiştir (Thakur vd., 2022). Önceki çalışmalara (Tavakoli vd., 2018; Pourghorban vd., 2021) benzer olarak çalışmamızda da, proniozomal ve serbest formda ekstrakt ile zenginleştirilen yoğurt örneklerinin antioksidan kapasiteleri kontrol (sade) yoğurda göre daha yüksek bulunmuştur. Proniozomal ekstrakt ilave edilen yoğurt örneklerinin, kontrol örneğine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olması proniozomlar ile enkapsüle edilen fermente ekstraktın fenolik bileşenlerinin kontrollü salınımından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır.

4.1.6. Toplam fenolik madde miktarı

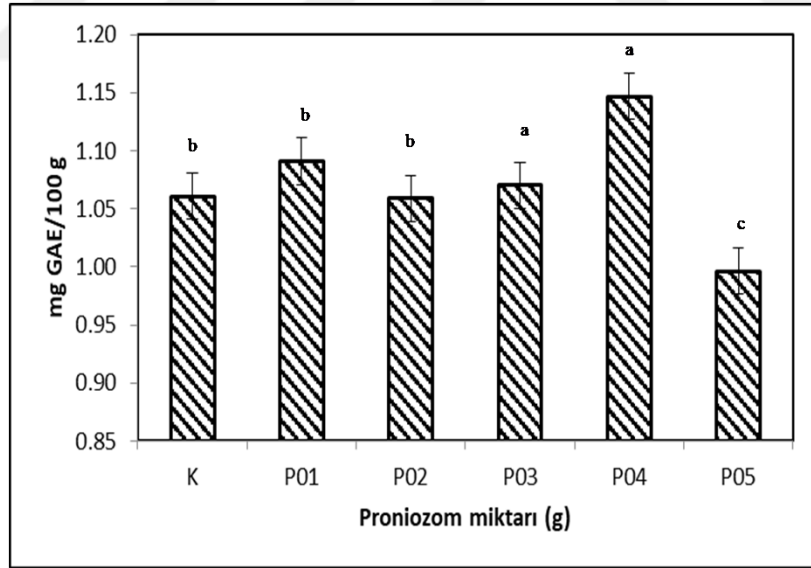
Fermentasyon sonrası ve fermentasyon öncesi farklı miktarlarda proniozom (0,1 g – 0,5 g) eklenen yoğurtların toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu yöntemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri olarak belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.

Fermentasyon öncesi ve sonrası farklı miktarlarda ekstrakt eklenen yoğurtların toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi için proniozom eklenen örneklerden farklı yöntemler kullanılarak denemeler yapıldığı ve sonuçlar değişkenlik gösterdiği için karşılaştırma yapılamamıştır. Bu nedenle ekstrakt eklenen örneklerin toplam fenolik madde sonuçları verilmemiştir.



^{a-e} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.7. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde analiz sonuçları.



^{a-e} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.8. Fermentasyon öncesi proniozom eklenen yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde analiz sonuçları.

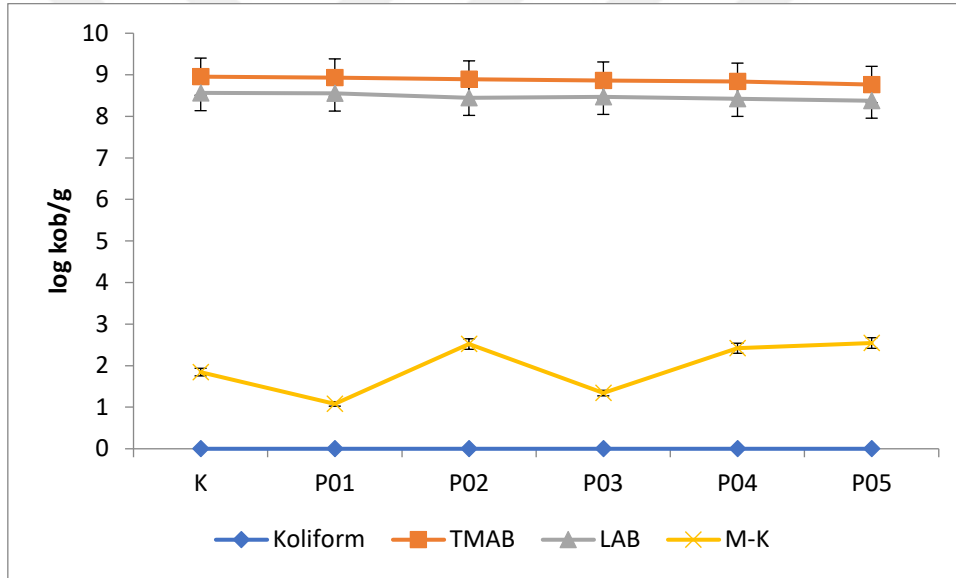
Yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde miktarı fermentasyon sonrası yoğurtlarda 0,94 ile 1,05 mg GAE/100 g arasında; fermentasyon öncesi yoğurtlarda 1 ile 1,15 mg GAE/100 g arasında değişmektedir. Analiz sonuçlarına göre fermentasyon sonrası yoğurt örneklerinde proniozom miktarı arttıkça toplam fenolik madde miktarı artmış ve istatistik olarak anlamlı bir fark bulunduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek toplam fenolik madde miktarı 0,4 ve 0,5 g proniozom eklenen yoğurt örneklerinde belirlenmiştir (Şekil 4.7). Fermentasyon öncesi numunelerde ise en yüksek toplam fenolik madde miktarı 0,4 g proniozom eklenen yoğurt örneğinde belirlenmiş ve fermentasyon sonrası yoğurt örneklerine göre proniozom miktarı arttıkça toplam fenolik madde miktarında daha düzensiz bir artma ve azalma gözlenmiştir. Fermentasyon öncesi numunelerin üretim aşaması sırasında sütün yüksek sıcaklığa getirildikten sonra proniozomların eklenmesi ve sıcaklıktan fenolik bileşiklerin etkilenmesi fermentasyon sonrası ve öncesi proniozom eklenen yoğurt numunelerinin toplam fenolik madde miktarları arasındaki farklılığa neden olabilmektedir. Enkapsülasyon ile fenolik bileşikler ve süt proteinleri arasındaki etkileşimlerin azaltıldığı ve eklenen fenolik bileşiklerin burukluğunun engellendiği belirtilmiştir (Altın vd., 2018). Yapılan bir çalışmada kitosan kaplı lipozomal vişne ekstraktı eklenen yoğurtların toplam fenolik madde miktarı değişimi depolama süresi boyunca incelenmiş, en yüksek toplam fenolik madde miktarı enkapsül eklenen yoğurtta bulunurken kontrol yoğurdun toplam fenolik madde miktarı en düşük bulunmuştur (Akgün vd., 2020).

4.2. Mikrobiyolojik Analizler

Fermentasyondan sonra farklı miktarlarda proniozom ve ekstrakt ilave edilen yoğurtların mikrobiyolojik analizleri (toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), laktik asit bakteri (LAB), maya-küf ve koliform bakteriler) yapılmış, sayım sonuçları log kob/g olarak ifade edilerek Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Sonuçlara göre TMAB sayımları; proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,93-8,76 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,95 log kob/g, serbest ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,99-8,47 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,84 log kob/g, LAB sayımları; proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,55-8,37 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,56 log kob/g ve serbest ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,33-7,93 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,01 log kob/g bulunmuştur.

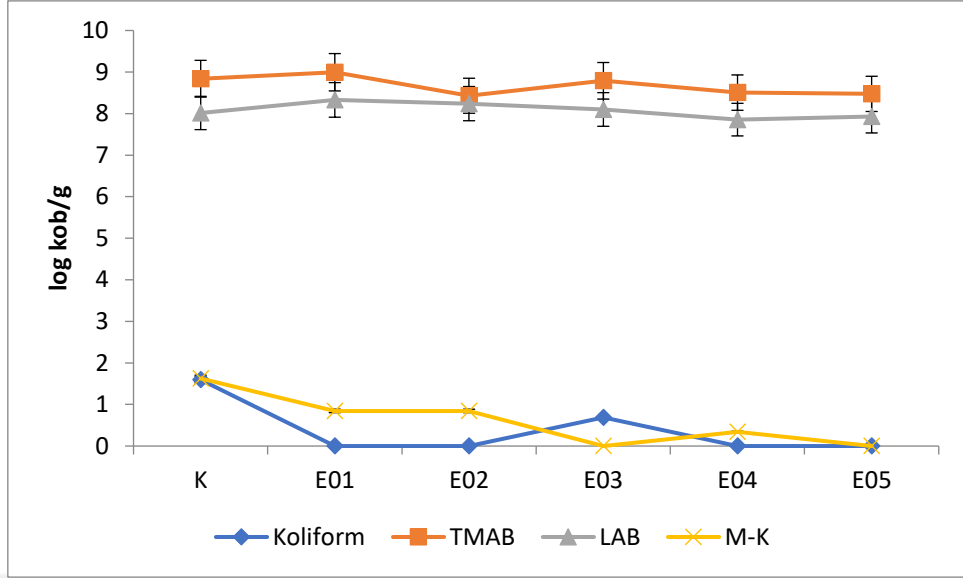
Fermentasyondan önce farklı miktarlarda proniozom ve ekstrakt ilave edilen yoğurtların mikrobiyolojik analiz sayım sonuçları ise Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Sonuçlara göre TMAB sayımları; proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,93-8,63 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,98 log kob/g, serbest ekstrakt eklenen yoğurtlarda 9-8,44 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,84 log kob/g, LAB sayımları; proniozomal ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,68-8,44 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,99 log kob/g ve serbest ekstrakt eklenen yoğurtlarda 8,33-7,94 log kob/g arasında, bu üretimin kontrol yoğurt örneğinde 8,02 log kob/g bulunmuştur.

Hem fermentasyondan sonra hem de fermentasyondan önce farklı miktarlarda proniozom ve ekstrakt ilave edilen yoğurtların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ve laktik asit bakteri sayısını bir miktar azalttığı fakat çok fazla değişime neden olmadığı gözlemlenmiştir.



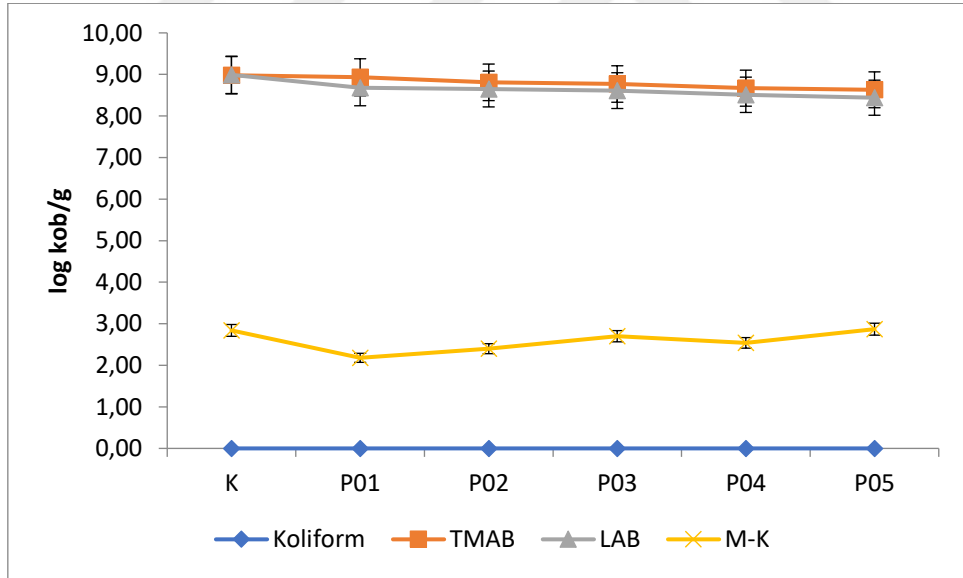
K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.9. Fermentasyon sonrası proniozom ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).



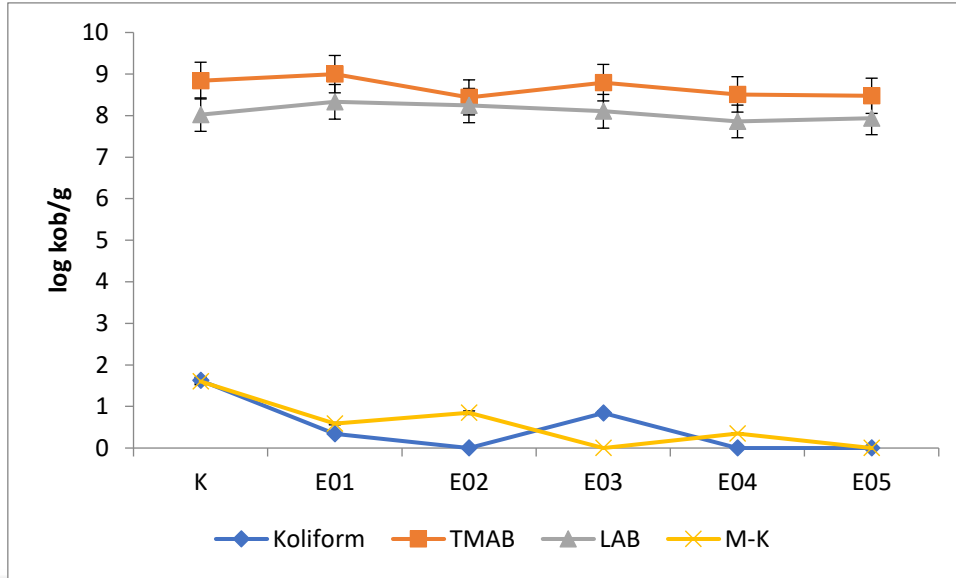
K: Proniozom için kontrol yoğurt, E01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, E02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, E03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, E04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, E05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.10. Fermentasyon sonrası ekstrakt ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).



K: Proniozom için kontrol yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.11. Fermentasyon öncesi proniozom ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).



K: Proniozom için kontrol yoğurt, E01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, E02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, E03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, E04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, E05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.12. Fermentasyon öncesi ekstrakt ilave edilen yoğurtların (K-P05) mikrobiyolojik sayım grafiği (log kob/g).

Farklı yoğurt ve fermente süt ürünleri türlerinde başlangıç bakterilerinin sayısı farklılık gösterse de, yoğurtta bulunan bakterilerin insan sağlığı için faydalı olduğu düşünülmektedir. Ancak bu sayının yoğurtta 10^7 kob/ml'den az olmaması ve başlangıç bakteriler içerisinde *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bulunması gerekmektedir.

Laktik asit bakterilerinin avantajı, gıda ve terapötik işlemede önemli olmaları ve aerobik ve anaerobik koşullarda büyümeleri, hızlı büyümeleri, toksin üretmemeleri, çoğunun patojenik olmaması, düşük pH'a direnç göstermeleri ve gıdalarda aroma maddeleri üretmelerinin yanı sıra gıdaları koruma yetenekleri gibi birçok özelliğe sahip olmalarıdır. Laktik asit bakterileri, sağlık üzerinde yararlı etkileri olan mikroorganizmaların tek veya birleşik kültürleri olarak kullanılabilir ve fermentasyon sonucu ortaya çıkardıkları bakteriyosinler gibi metabolitler insan ve hayvanları etkileyen birçok hastalığın tedavisinde önemlidir (Abdulkarem ve Hasan 2022).

Yapılan bir çalışmada, yoğurda *Hibiscus sabdariffa* L. çiçek marmelatı ilavesinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ve laktik asit bakteri sayısını azalttığı rapor edilmiştir

(Arslaner, Salik ve Bakirci, 2020). Mikrokapsül ilaveli çilekli yoğurdun zenginleştirilmesi ile ilgili başka bir araştırmada başlangıç laktobasil sayıları depolamanın ilerlemesi ile birlikte azalışa geçmiştir (Estrada, Boeneke, Bechtel ve Sathivel, 2011). Kim ve ark. (2003) kapsüllenmiş ve kapsüllenmemiş demir ve C vitamini ilaveli yoğurtlarda depolama süresince *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısının azaldığını ve örneklerin arasında önemli bir farkın bulunmadığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, bu azalış, proniozomal ve serbest zeytin yaprağı ekstraktının artan konsantrasyonuna bağlı olarak, numunelerde pH'taki değişiklikler, şeker ve asitlikteki değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir (Meor Hussin, Mohamad Said, Che Wan Sapawi ve Anzian 2017; Ozer, vd., 2007; Ziarno ve Zaręba, 2020). Ayrıca doğal antimikrobiyal maddeler arasında gösterilen oleuropeinin, mikroorganizmaların gelişme hızını geciktirdiği ve gelişmeyi inhibe ettiği bildirilmiştir (Visioli ve ark., 1995; Tuck ve Hayball, 2002; Gökçe ve Uyla, 2011; Malik ve Bradford, 2006). Artan proniozom miktarı ile mikroorganizmalardaki azalış buna göre de açıklanabilmektedir.

Maya küf sayıları ise, fermentasyondan sonra proniozomal ekstrakt ilave edilen yoğurtlarda 1,08-2,54 log kob/g, serbest ekstrakt ilave edilen yoğurtlarda <1-1,62 log kob/g arasında; fermentasyon öncesi ilaveli yoğurtlarda ise proniozomal ekstrakt katılan yoğurtlarda 2,18-2,87 log kob/g, serbest ekstrakt ilave edilen yoğurtlarda <1-1,60 log kob/g arasında değişim göstermiştir. Maya ve küf sayıları, raf ömrü ve yoğurdun kalitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilir. TS 1330 Yoğurt Standardına göre ticari olarak satılan yoğurtta maksimum 100 kob/g küf bulunmasına izin verilmektedir (Anonim, 2006). Bu bağlamda, bu yoğurtların standarda uygun olduğunu söylenebilmektedir.

Fermentasyon sonrası yoğurtların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılan koliform bakteri sayımı sonucuna göre farklı miktarlardaki proniozomal ekstrakt ilaveli yoğurtlarda koliform bakteri tespit edilmemiş, serbest ekstrakt ilave edilen yoğurtlar arasında ise yalnızca K (1,59) ve E03 (0,69) örneğinde gözlenmiştir. Fermentasyon öncesi yoğurtların koliform bakteri sayım sonucunda da farklı miktarlardaki proniozomal ekstrakt ilaveli yoğurtlarda koliform bakteri tespit edilmemiş, serbest ekstrakt ilave edilen yoğurtlar arasında ise K (1,63), E01 (0,35) ve E03 (0,85) örneğinde gözlenmiş ancak ticari olarak satılan yoğurtta bulunmasına izin verilen maksimum koliform bakteri miktarını aşmamıştır. Bu da

Üretilen yoğurt örneklerinin standarda uygun olduğunu ve mikrobiyal açıdan insanların tüketimi için güvenli olduğunu göstermiştir.

4.3. Yoğurtlarda Aroma Analizi

Yoğurt, laktik asit bakterilerinin simbiyotik bir kültürü kullanılarak sütün fermentasyonu ile üretilen bir üründür. Laktozun fermentasyonu ile yoğurdun yapısını (pıhtılaşmış jelin oluşumu yoluyla) ve karakteristik tadını oluşturan, süt proteinini denatüre eden laktik asit üretilir. Bu işlem sırasında, belirli tat ve aromayı veren küçük miktarlarda yan ürünler de üretilir (Cheng, 2010).

Bu çalışmada artan miktarlarda proniozomal ve serbest ZYE ilave edilen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili incelenmiştir. Elde edilen inceleme sonucunda, fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlarda toplamda 8 adet karboksilik asit, 4 adet aromatik hidrokarbon ve 1 adet keton aroma bileşeni (Tablo 4.7); fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlarda ise 8 adet karboksilik asit, 1 adet aromatik hidrokarbon, 1 adet alkol, 1 adet keton ve 1 adet fenol aroma bileşeni tespit edilmiştir (Tablo 4.8). Yoğurt örneğine ekstrakt ve proniozomların ilave edilmesi yoğurt aroma bileşenlerinde bazı farklılıklar oluşturmuştur.

Fermentasyon sonrası ekstrakt ve proniozom ilaveli yoğurtların aroma bileşenleri incelendiğinde kontrol rneği ve proniozom içeren yoğurtlarda stiren, 1-metiletenil-benzen ve 1-etenil-3-metil-benzen aromatik hidrokarbonları tespit edilmiş ancak ekstrakt içeren örneklerde tespit edilmemiştir; fermentasyon öncesinde proniozom ilave edilen yoğurtlarda ise kontrol rneği ve proniozom içeren yoğurtlarda fenetil alkol ve 2,4-2 tersiyer bütil alkol tespit edilmemiş, ekstrakt içeren örneklerde tespit edilmiştir. Yoğurtlarda bu bileşenlerin tespitinin ekstrakt ilavesinden kaynaklanmış olacağını göstermektedir. Ek olarak, 1-etenil-4-etil-benzen ve 4-fenil-3-büten-2-on bileşikleri sade yoğurtta fazla miktarda bulunmuştur ve proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlarda azalmış ya da kaybolmuştur. Ayrıca, fermente süt ürünü yoğurt için önemli olan asetik asit, hekzanoik asit ve oktanoik asit (kaprilik asit) hem fermentasyon sonrası hem de fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli örneklerde diğer bileşiklere kıyasladaha yüksek miktarda bulunmuştur.

Tablo 4.7. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili.

No	RT	LRI	Kimyasal sınıf	Bileşik	K	P01	P02	P03	P04	P05	E01	E02	E03	E04	E05
Konsantrasyon (µg/kg)															
1	15.468	1236	Aromatik hidrokarbon	Stiren	-	-	-	-	-	-	1,17	3,42	3,08	1,64	1,5
2	20.848	1325	Aromatik hidrokarbon	(1-metiletetil)-benzen	-	-	-	-	-	-	2,96	4,9	-	-	-
3	20.856	1325	Aromatik hidrokarbon	1-etenil-3-metil-benzen	-	-	-	-	-	-	-	-	5,01	2,32	3,07
4	26.028	1401	Karboksilik asit	Asetik asit	-	2,83	3,66	3,47	4,63	3,35	-	-	2,49	2,57	3,81
5	26053	1462	Aromatik hidrokarbon	1-etenil-4-etil-benzen	77,95	-	-	-	-	-	16,72	17,57	-	-	-
6	32556	1596	Karboksilik asit	Bütanoik asit	4,07	2,89	4,75	1,28	1,41	1,09	0,86	1,14	1,91	1,39	2,16
7	40094	1800	Karboksilik asit	Hekzanoik asit	10,27	7,58	11,88	3,57	3,56	3,39	1,91	2,52	4,39	3,35	4,91
8	42904	2095	Keton	4-fenil-3-büten-2-on	15,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	44747	2011	Karboksilik asit	Kaprilik asit	7,46	7,67	69,62	4,15	3,31	4,05	1,27	1,72	2,41	2,1	4,65
10	46260	2128	Karboksilik asit	Nonanoik asit	2,87	-	-	-	-	-	0,79	-	-	-	-
11	47557	2231	Karboksilik asit	n-Dekanoik asit	0,86	3,43	9,32	2,21	1,96	2,13	-	1,07	0,68	0,77	1,73
12	49088	2387	Karboksilik asit	Benzoik asit	10,34	5,55	9,8	3,72	3,54	3,11	1,69	3	1,4	1,51	2,85
13	49.786	2451	Karboksilik asit	Dodekanoik asit	-	-	-	-	1,05	1,13	-	-	-	-	-

K: Kontrol (sade) yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt

Tablo 4.8. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili.

No	RT	LRI	Kimyasal sınıf	Bileşik	K	P01	P02	P03	P04	P05	E01	E02	E03	E04	E05
Konsantrasyon (µg/kg)															
1	26028	1401	Karboksilik asit	Asetik asit	-	2,08	16	1,65	1,28	1,23	0,34	0,06	-	0,32	-
2	26053	1462	Aromatik hidrokarbon	1-etenil-4-etil-benzen	77,95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	32556	1596	Karboksilik asit	Bütanoik asit	4,07	0,74	2,54	-	0,95	0,95	0,72	0,70	1,38	0,87	3,89
4	40094	1800	Karboksilik asit	Hekzanoik asit	10,27	2,94	-	3,0	3,35	3,27	2,76	4,35	4,81	4,27	15,8
5	41875	1856	Alkol	Fenetil alkol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,50
6	42904	2095	Keton	4-fenil-3-büten-2-on	15,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	44747	2011	Karboksilik asit	Kaprilik asit	7,46	3,08	17,1	6,45	5,18	4,19	2,79	5,12	4,95	3,77	24,5
8	46260	2128	Karboksilik asit	Nonanoik asit	2,87	-	-	-	-	-	0,16	1,59	0,06	-	-
9	47557	2231	Karboksilik asit	n-Dekanoik asit	0,86	2,25	14,9	-	4,57	3,55	1,42	3,04	3,41	2,18	13,3
10	47.936	2277	Fenol	2,4-2 Tersiyer bütıl alkol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,47	-
11	49088	2387	Karboksilik asit	Benzoik asit	10,34	2,47	15,3	7,57	4,31	4,29	1,38	1,26	3,21	2,32	10
12	49786	2451	Karboksilik asit	Dodekanoik asit	-	0,99	-	-	-	2,17	-	-	-	-	-

K: Kontrol (sade) yoğurt, P01: 0,1 g proniozom içeren yoğurt, P02: 0,2 g proniozom içeren yoğurt, P03: 0,3 g proniozom içeren yoğurt, P04: 0,4 g proniozom içeren yoğurt, P05: 0,5 g proniozom içeren yoğurt, E01: 16 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E02: 33 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E03: 50 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E04: 66 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt, E05: 83 mg serbest ekstrakt içeren yoğurt.

Yoğurt tipik olarak, karakteristik keskin asit tadı ve yeşil elma aroması ile pürüzsüz, viskoz bir jel olarak karakterize edilir (Bodyfelt, Tobias ve Trout, 1988). Süt ürünlerinin temel tadı, esas olarak pastörizasyon, fermentasyon, işleme ve depolamadan etkilenen inek sütündeki doğal uçucu bileşenlerden kaynaklanır. Yoğurtta bulunan uçucu organik bileşiklerin büyük bir kısmı başlangıç bakterileri (starter kültür) tarafından üretilmez, fakat bunlar süttten kaynaklı oluşurlar (Imhof, Glätti ve Bosset, 1994). Sütün; lipid, protein, karbonhidrat ve minerallerden oluşan son derece karmaşık bir gıda olduğu ve süt ürünlerinde 400'den fazla uçucu bileşik bulunduğu ifade edilmiştir (Cheng, 2010).

Yoğurdun lezzet aktif bileşiklerinin süttekinden farklılık göstermesi büyük olasılıkla asit üreten bakterilerin metabolizmasından kaynaklanmaktadır. Bu kültür kaynaklı aroma bileşikleri, sütte bulunan laktoz, lipid, sitrik asit ve proteinlerin/amino asitlerin mikrobiyal, enzimatik veya kimyasal dönüşümlerinden oluşmaktadır. Yoğurtta bulunan aroma bileşikleri temelde dört kategoriye ayrılabilir. Bunlar; uçucu asitler (örneğin, asetik, propiyonik ve butirik), uçucu olmayan asitler (örneğin, laktik, pirüvik, oksalik ve süksinik), karbonil bileşikleri (örneğin, asetaldehit, aseton, asetoin ve diasetil) ve çeşitli bileşikler (örneğin, protein, yağ ve laktozun termal bozunmasıyla oluşan belirli amino asitler ve/veya bileşenler) olarak ifade edilmektedir (Cheng, 2010).

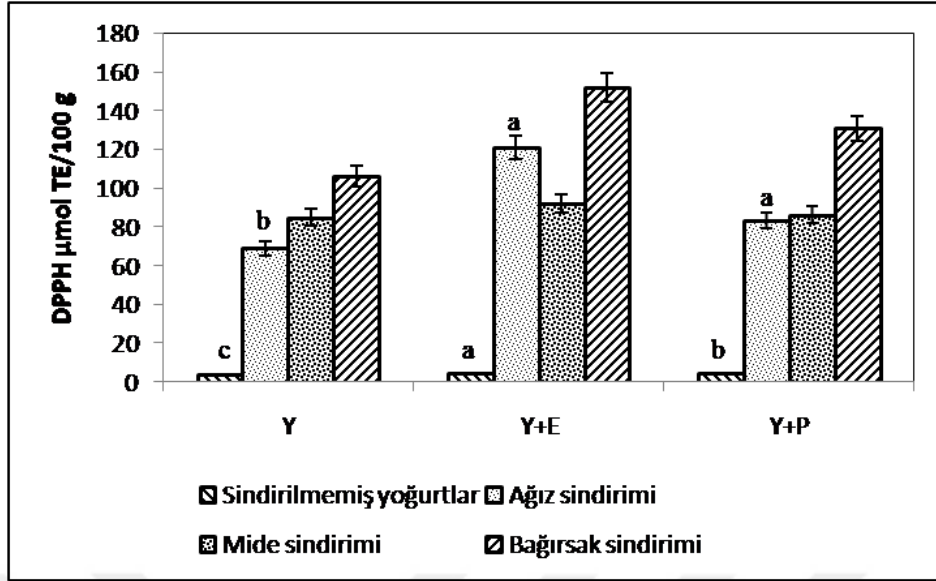
İnek sütünden üretilmiş fermente yoğurtta bulunan ana uçucu aroma bileşik asetaldehittir (Rysstad ve Abrahamsen, 1987). Yoğurdun esas aroma bileşeni olan asetaldehit ürettiğimiz yoğurtlarda tespit edilememiştir. Asetaldehit alkol dehidrojenaz enzimi ile etanole indirgenebilmektedir (Pinto vd., 2009). Yapılan bir araştırmada, yoğurtlardaki asetaldehit içeriğinin genel olarak 14 günlük depolamaya kadar azaldığını ve ardından maksimum konsantrasyonlarına ulaştığı 21 güne kadar önemli bir artış gösterdiği ve ardından tekrar azaldığını rapor etmişlerdir (Pinto vd., 2009). Yapılan çalışmalar, yoğurtlardaki asetaldehit konsantrasyonlarının 12 günlük depolama süresince azaldığını (Laye vd., 1993), saklama işlemi sırasında asetaldehit konsantrasyonunun düştüğünü, en yüksek pikin 14 gün sonra ortaya çıktığını ve değerlendirilen tüm yoğurtlarda daha sonra düştüğünü bildirmişlerdir (Pinto vd., 2009). Bu sonuçlar da yoğurt bakterilerinin dehidrojenaz aktivitesi ile asetaldehiti indirgediğini desteklemektedir.

Fermentasyon sırasında hem lipolitik aktivite hem de bakteriyel fermentasyonla yoğurtta farklı asitler oluşmaktadır. Asetik asit, laktik asit bakterilerinin laktozu fermente etmesiyle

Üretilen önemli bir bileşiktir (Alonso ve Fraga, 2001). Cheng (2010)'in yapmış olduğu derlemede yoğurtlarda en yaygın bulunan organik asitler asetik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit şeklinde sıralanmıştır. Bu asitler genel olarak çalışmamızdaki yoğurtlarda da tespit edilmiştir.

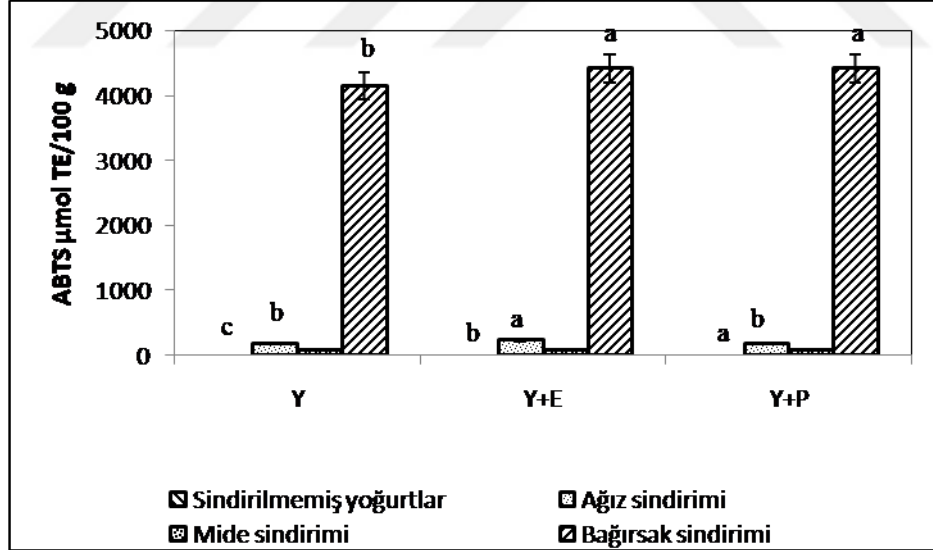
4.4. *In vitro* Sindirim Analizi

Fenolik bileşikler bitki bazlı ana antioksidanlardır. Bu nedenle, bir gıda sistemine eklendiğinde mevcut toplam fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitelerinin ölçülmesi, serbest radikal temizleyicileri olarak işlevlerini ve insan sağlığına katkılarını anlamak için gereklidir. Antioksidan potansiyel, tek elektron transferi veya hidrojen atomu transferi şeklinde serbest radikalleri temizleme kapasitesi ve metal iyonlarının elasyonu gibi çeşitli kimyasal mekanizmalarla belirlenir (Ali vd., 2021). Bu nedenle, antioksidan potansiyelini tek bir yönteme dayanarak belirlemek zordur. Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerini değerlendirmek için DPPH, ABTS ve TAC (Total Antioxidant Capacity: Toplam antioksidan kapasite) gibi çeşitli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Amoateng vd., 2011). Kapsllenmi ve serbest ZYE takviyesinin yoğurdun sindirilebilirliği üzerindeki etkisi, simüle edilmiş *in vitro* sindirim öncesinde ve sonrasında yoğurdun DPPH ve ABTS değerlerinin belirlenmesiyle incelenmiştir. Şekil (4.13), (4.14), (4.15) ve (4.16) ZYE takviyesinin, kapsüllemenin simüle edilmiş *in vitro* sindirim sisteminde yoğurtların DPPH ve ABTS ile belirlenen antioksidan kapasiteleri üzerindeki etkisini göstermektedir.



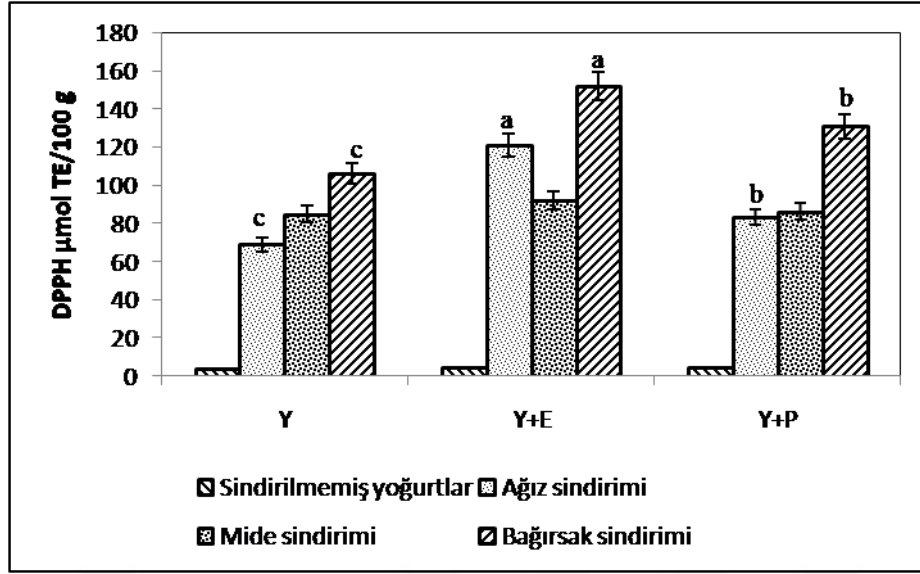
^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.13. Fermentasyon sonrası sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde *in vitro* sindirimin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.



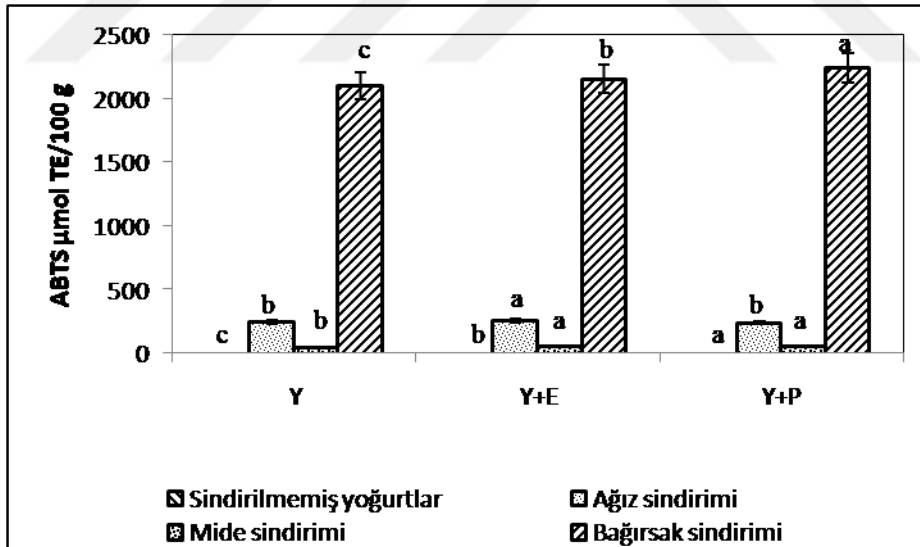
^{a-e} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.14. Fermentasyon sonrası sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde *in vitro* sindirimin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.15. Fermentasyon öncesi sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde *in vitro* sindirimin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.16. Fermentasyon öncesi sade yoğurt (Y), proniozom (Y+P) ve ekstrakt ilaveli (Y+E) yoğurt örneklerinde *in vitro* sindirimin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine etkisi.

Şekil 4.13'deki sonuçlar, yoğurdun ZYE ile zenginleştirilmesinin, yoğurdun DPPH ile belirlenen antioksidan aktivitesini önemli ölçüde arttırdığını kanıtlamaktadır. Sindirimden önce, ZYE ilave edilen yoğurttaki DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesonucu (17,45 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$), ZYE ile takviye sonrasında 11,8 kat artarken, enkapsüle ZYE takviyesiyle DPPH (13,5 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) sonucu 16,9 kat artmıştır. Polifenollerin salınımı sindirim sırasında artmışve bağırsak fazında gastrik faza göre daha fazla bulunmuştur; bu da proniozomal kapsülleme tekniğinin sindirim enzimlerine ve mide sindirimi sırasında meydana gelen pH değişikliklerine karşı koruyucu bir etkisini ortaya koymaktadır. Vezikül çift katmanı ve proniozomların stabilizasyonu için kullanılan malzemeler, polifenollerin sindirim enzimlerine ve ayrıca her aşamada pH'a duyarlılığını belirler (Saura-Calixto vd., 2007). Buna benzer olarak, diğer çalışmalarda, hem kapsüllenmiş yaban mersini ekstraktı (Flores vd., 2015) hem de keçiyoynuzu posası ekstraktı (Ydjedd vd., 2017) için sindirimle birlikte FRAP (Ferric reducing ability of plasma)'taki artışın en çok bağırsak fazında belirgin olduğu görülmüştür.

In vitro sindirim sırasında ektrat eklenen yoğurtların DPPH ile belirlenen antioksidan kapasite değeri %7,4'lük bir düşüş göstermiştir. Mide ve bağırsak sindirimi sırasında tespit edilen antioksidan kapasite değerlerinde gözlenen düşüşbeklenen bir durumdur. Kontrol yoğurt ve ZYE eklenen yoğurt örnekleri mide sıvısında çok düşük pH'a (3.0) maruz kaldığında, ardından safra tuzlarına ve ince bağırsakta enzimlere (pankreatin) maruz kaldığında, bu örneklerin hidrolize olacağı ve başlangıçtaki miktarlardan daha az olan fenolik bileşiklerin kalanını serbest bırakacağı bildirilmiştir (Zahid vd., 2022). Bununla birlikte, proniozom ilave edilmiş yoğurtların DPPH ile belirlenen antioksidan aktivitesindeki artışın, sindirim sürecinin bir sonucu olarak kompleks biyoaktif bileşiklerin salınması ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (da Silva Haas, Toaldo, Gomes, Luna, de Gois ve Bordignon-Luiz, 2019). Bu bulgu, sindirimin farklı aşamalarının biyoaktif moleküller üzerinde önemli bir etki yarattığını göstermiş ve yoğurdun antioksidan kapasite içeriği proniozomal zeytin yaprağı ekstraktı ile zenginleştirilerek önemli ölçüde iyileştirilmiştir.

Şekil 4.14'de bağırsak fazındaki proniozomal ZYE eklenen yoğurtlarda belirlenen en yüksek antioksidan aktivite, nötr pH'ta nanokapsül yapısının bozunması sonucunda ekstraktların salınmaları ile açıklanabilir. Sindirimin oral ve gastrik aşamalarında kaydedilen zayıf aktiviteler, nanokapsül yüzeyinden az miktarda polifenol salınımına ve/veya ağız ve mide

sıvılarının yüzey gözeneklerinin varlığı nedeniyle nanokapsüllere nüfuz etmesine bağlı olabilir (Diep, Yoo ve Rush, 2022). Bununla birlikte, örneklerin sindirim aşamalarında DPPH ve ABTS yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktivitelerindeki farklılık, fenoliklerin ve antosiyaninlerin içeriğinden değil, mevcut polifenollerin çeşitliliğinden ve özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca farklılık, kullanılan *in vitro* sindirim koşullarıyla ve/veya matrisle ilişkili bileşiklerin salınımıyla ilişkili polifenol mevcudiyetindeki değişikliklerle ilgili olabilir (Ferreyya, Torres-Palazzolo, Bottini, Camargo ve Fontana, 2021). Benzer şekilde, kapsüllenmiş tamarillo polifenollerinin yoğurda uygulandığı başka bir çalışmada, örneklerin sindirim aşamalarında FRAP ve CUPRAC aktivitelerinde farklılık görülmüştür (Diep vd., 2022). Enzimatik etkiyle birlikte, ağız-mide-bağırsak sindirimindeki pH etkisi ve bu çalışmada analiz edilmeyen bileşiklerin (örn. peptitler veya kompleks polifenoller) varlığı antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır (da Silva Haas vd., 2019). Bu çalışmada görüldüğü gibi, asidik mide fazı ile alkalın bağırsak fazı ortamları arasındaki süpernatanın antioksidan kapasitesindeki artış, polifenollerin aromatik halkaları üzerindeki hidroksil gruplarının deprotonasyonu ile kısmen açıklanabilir (Ferreyya vd., 2021).

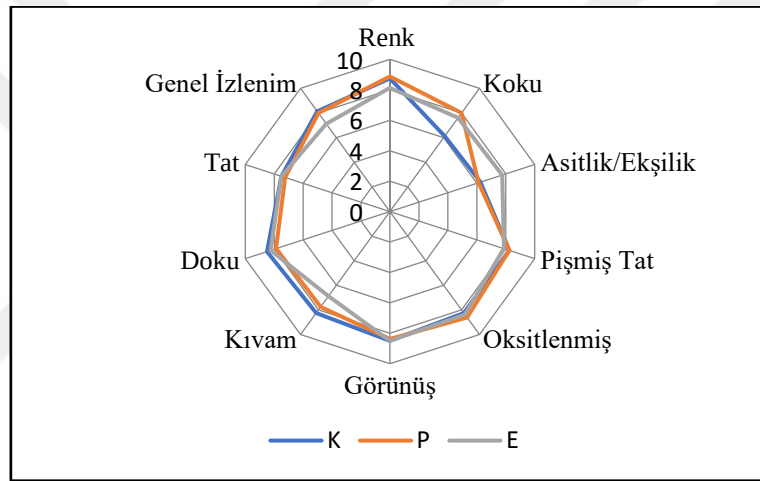
Şekil 4.15 ve 4.16 fermentasyondan önce ilave edilen ZYE ve proniozom ilave edilen yoğurt örneklerinin simüle edilmiş *in vitro* sindirimin yoğurttaki DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen antioksidan aktivite değişiklikleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Buna göre, fermentasyon sonrası yoğurt örneklerinde mide ve bağırsak fazlarında DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite fermentasyon öncesi ilaveli olanlara göre önemli miktarda yüksek olduğu bulunmuştur. ABTS yöntemi ile de aynı durum gözlenmiş, fermentasyon sonrası yoğurt örneklerinde özellikle bağırsak fazında ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite fermentasyon öncesi ilaveli olanlara göre önemli miktarda yüksek bulunmuştur.

Sindirilmemiş yoğurt numunelerinin antioksidan kapasite değerleri ise her iki üretimde de benzer bulunmuştur. Fermentasyondan sonra DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite değerleri kontrol yoğurtta 2,8 µmol TE/100 g, proniozom içerikli yoğurtta 3,1 µmol TE/100 g, ekstrakt içerikli yoğurtta 5,1 µmol TE/100 g olarak gözlenirken; fermentasyon öncesi kontrol yoğurtta 3,9 µmol TE/100 g, proniozom içerikli yoğurtta 4,5 µmol TE/100 g, ekstrakt içerikli yoğurtta 4,5 µmol TE/100 g bulunmuştur.

Sonuç olarak, yoğurda ZYE eklenmesinin, ürünün sindirim sonrasında hem DPPH hem de ABTS ile belirlenen antioksidan aktivitelerinde artışa neden olduğunu göstermiştir.

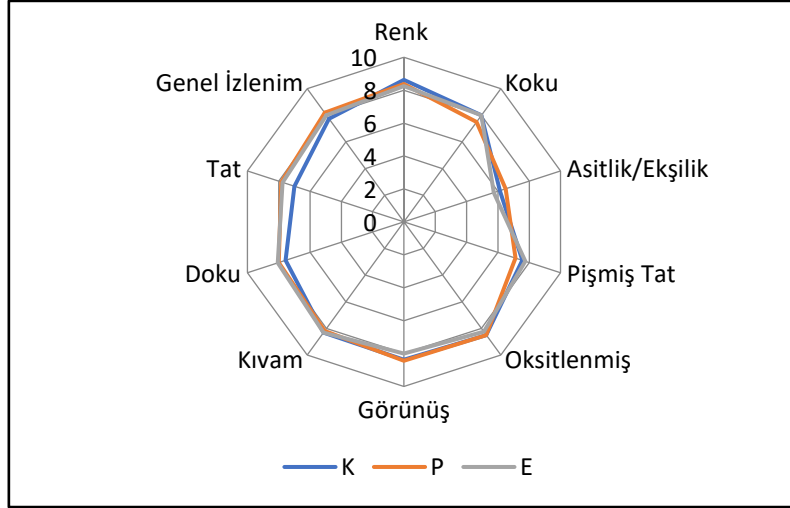
4.5. Yoğurt Örneklerinin Duyusal Analizi

Fermentasyon sonrası proniozomal ZYE ve serbest formda ZYE ilave edilen yoğurtlar ile kontrol (sade) yoğurdun ve fermentasyon öncesi proniozomal ZYE ve serbest formda ZYE ilave edilen yoğurtlar ile kontrol (sade) yoğurdun renk, koku, asitlik/ekşilik, pişmiş tat, oksitlenmiş, görünüş, kıvam, doku, tat ve genel izlenim parametrelerinin değerlendirildiği duyusal analiz değerleri sırasıyla radar grafiği olarak Şekil 4.17’de ve Şekil 4.18’de verilmiştir.



K: Kontrol yoğurt, P: Proniozom içeren yoğurt, E: Ekstrakt içeren yoğurt

Şekil 4.17. Fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinde duyusal analiz değerleri şematik gösterimi.



K: Kontrol yoğurt, P: Proniozom içeren yoğurt, E: Ekstrakt içeren yoğurt

Şekil 4.18. Fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinde duyu analizi değerleri şematik gösterimi.

Farklı konsantrasyonlar (0,1 g - 0,5 g) arasından seçilen 0,5 g proniozomal ekstrakt ve eşdeğeri serbest ekstrakt (83 mg) içeren yoğurt örneklerinin duyu değerlendirme sonuçlarına bakıldığında, hem fermentasyon sonrası hem de fermentasyon öncesi katkılı yoğurtlarda duyu parametrelerde örnekler arasında önemli bir farklılık görülmemiş ve kontrol yoğurt örneği ile proniozomal ZYE ve serbest ZYE ilave edilen yoğurtlar kıyaslandığında benzer değerlendirmeler yapılmıştır. Örneğin fermentasyon sonrası yoğurtlarda tat değerleri 7,2 - 7,5 değerleri arasında iken; fermentasyon öncesi yoğurtlarda tat değerleri 7 - 7,82 değerleri arasındadır. Bu sonuçlara göre proniozom ilave edilen yoğurtların tercih edilebilir fonksiyonel ürünler olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

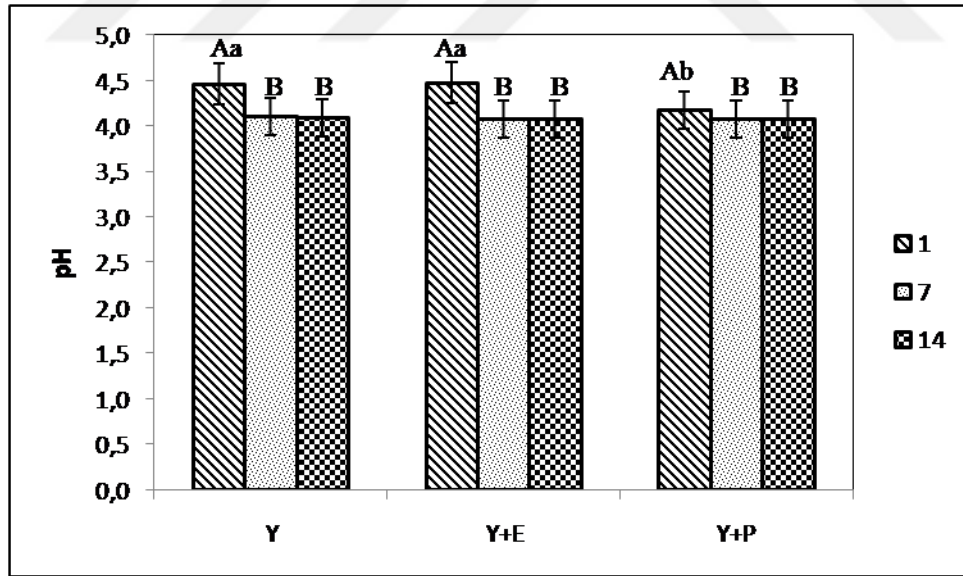
Thakur vd. (2022), farklı konsantrasyonlarda (%0,5-%6) liyofilize mikrokapsüllenmiş nar kabuğu ekstraktı içeren yoğurtların renk, doku, tat, aroma ve genel kabul edilebilirlik parametrelerini kullanarak duyu analize tabii tutmuşlar ve %2 oranında zenginleştirilmiş yoğurdun tüm duyu kalite özellikleri açısından en kabul edilebilir ve kontrol örneği ile benzer sonuçlar elde edilen örnek olduğunu gözlemlemişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, mikrokapsüllenmiş *Melissa officinalis* esansiyel yağı ile zenginleştirilmiş aromalı yoğurdun duyu değerlendirme sonuçlarına göre panelistler mikrokapsül içeren numuneler arasında ayırım yapamamış; bu da üretilen *M. officinalis* yağı mikrokapsüllerinin yutulduktan sonra ağızda hızla algılanabileceğini düşündürmüştür (Sani vd., 2020). Bu model Abedi ve ark.

(2016)'nın sonuçlarıyla da tutarlıdır. Burada yoğurt, *Nigella sativa* tohumu yağının mikrokapsülleriyle zenginleştirilmiştir. Bu bağlamda, sonuçlar, yoğurda mikrokapsül eklemenin, sade örneklerle karşılaştırıldığında genel kabul edilebilirliği önemli ölçüde etkilemediğini göstermiştir.

4.6. Depolama Analizleri

4.6.1. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı pH değerleri

Şekil 4.19'da yoğurt numunelerinin pH'ındaki değişim, 4 °C'de 14 günlük depolama süresince değerlendirilmiştir. Depolama sonunda laktik asit bakterilerinin mikrobiyal aktivitesinden dolayı sade yoğurt ve ekstrakt ilaveli örneklerin pH değeri yaklaşık 4,5'ten 4'e; proniozom ilaveli örneklerin pH değeri ise 4,2'den 4'e düşmüştür. 7. ve 14. günlerde incelenen kontrol ve ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinde pH'taki azalmanın daha keskin olduğu belirlenmiştir. Bu da kapsüllenmiş numunelerin kapsüllemenin koruyucu etkisi nedeniyle depolama sırasında kontrol ve ekstrakt içeren örneklere kıyasla daha stabil olduğunu göstermiştir.



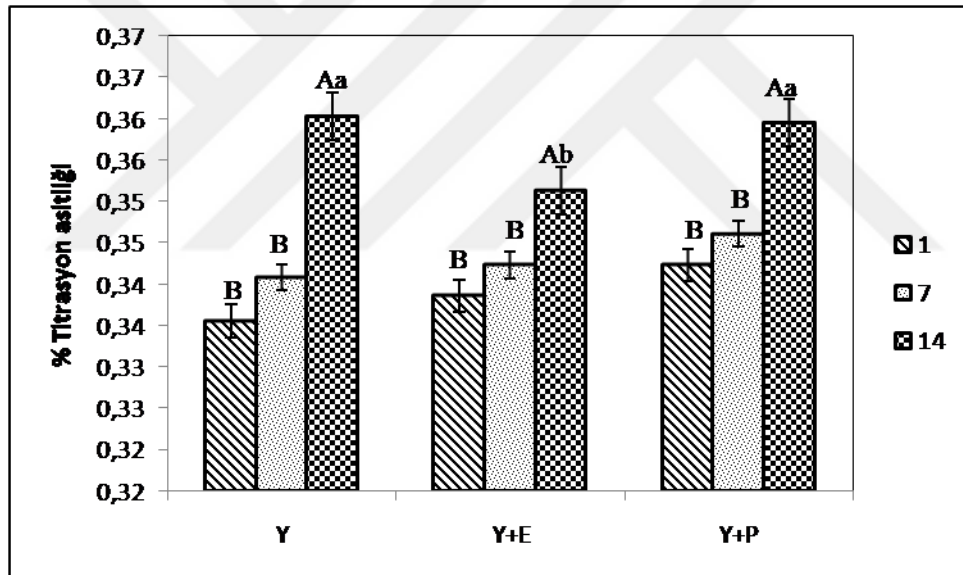
^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. ($p < 0,05$) ^{A-B} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler depolama günleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.19. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen pH değerleri.

Benzer olarak Ghorbanzade ve ark. (2017) depolama boyunca pH'taki en keskin düşüşü kontrol örneğinde gözlemlemiş ve nanokapsüllü balık yağı (dispersiyon formunda) içeren zenginleştirilmiş yoğurtta daha düşük bir pH değeri bildirmiştir. Nanolipozomlar içerisinde zeytin yaprağı fenolikleri ile zenginleştirilmiş yoğurdun fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada da depolama süresince kontrol, kapsüllenmiş ve serbest ekstrakt ilaveli yoğurtların pH'ı düşmüş, depolama süresinin tüm numunelerin pH'ı üzerinde önemli bir etkiye ($p<0,05$) sahip olduğu belirtilmiştir (Tavakoli vd., 2018).

4.6.2. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı asitlik değerleri

Kontrol, proniozom ve serbest ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinin 4°C'de 14 günlük depolama sırasında asitliğindeki değişiklikler incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.20'de özetlenmiştir.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. ^{A-B}Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler depolama günleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

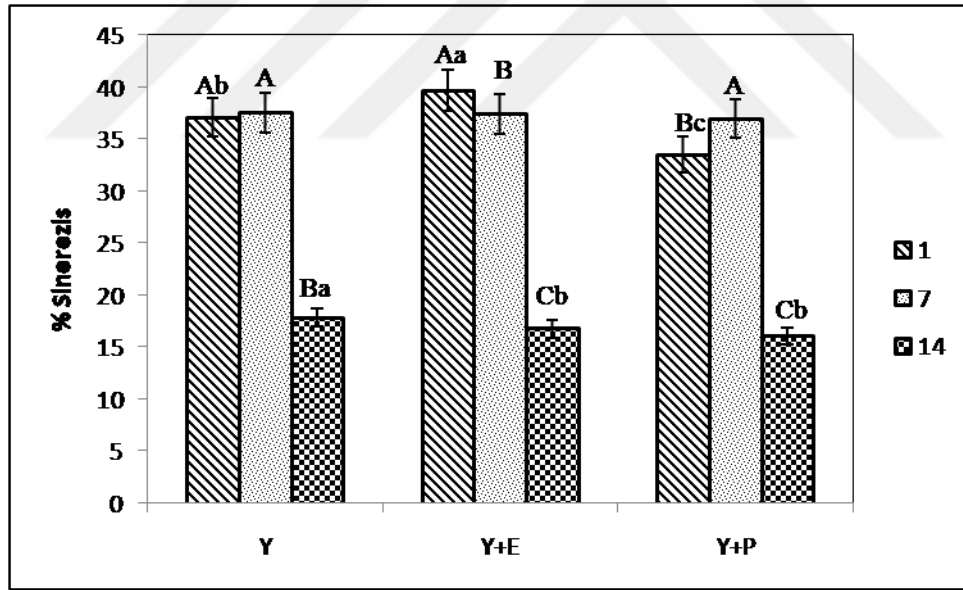
Şekil 4.20. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen asitlik değerleri.

Sonuçlara göre, depolama süresince örneklerin pH değerleri düşmüş, asitlik değerleri artmıştır. Örneklerin asitlik değerleri; kontrol yoğurtta 0,33'ten 0,36'ya, ekstrakt eklenen yoğurtta 0,33'ten 0,35'e ve proniozom eklenen yoğurtta 0,34'ten 0,36'ya olmak üzere bir miktar artmıştır. Asit içeriğindeki artış, depolama sırasında laktik asit oluşumu veya kalıntı

fermantasyon nedeniyle oluşan asitlenme sonrası durum ile açıklanabilir (Senadeera vd., 2018; Dias vd., 2020). Şekil 4.20’de görüldüğü gibi kontrol örneğine göre kapsüllenmiş ve serbest ekstrakt ilavesinin asitlik üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır. Ayrıca başka bir araştırma grubu, oleuropein ve zeytin fenoliklerinin (tirozol ve hidroksitirozol) depolama sırasında süt ve yoğurdun asitliğini belirgin şekilde değiştirmedeğini bildirmiştir (Zoidou vd., 2014).

4.6.3. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı sinerezis değerleri

Sinerezis, sıvı/peynir altı suyu çıkışıyla eş zamanlı olarak meydana gelen jel büzülmesi olarak tanımlanır. Bu büzülme, jel ağının tüm sıvı fazları yakalayamamasından kaynaklanmaktadır (Serra ve ark. 2009). Yoğurdun depolanması sırasında faz ayrımının engellenmesi ve sinerezis oranının düşürülmesi süt endüstrisindeki ana hedeflerden biridir. Sinerezis esas olarak yoğurdun protein ağındaki modifikasyon ve bozulma nedeniyle oluşur. Şekil 4.21, 14 günlük depolama sırasında yoğurt numunelerinin sinerezisini göstermektedir.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. ^{A-B}Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler depolama günleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.21. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca kaydedilen sinerezis değerleri.

Depolama süresince incelenen örneklerin sinerezis değerleri; kontrol yoğurtta 37’den 17,8’e, ekstrakt eklenen yoğurtta 39,7’den 16,7’ye, proniozom eklenen yoğurtta 33,5’ten

16'ya düşmüştür. Görüldüğü gibi yoğurt numunesine nanokapsüllenmiş ekstrakt eklenmesiyle depolanan yoğurtlarda sinerezis oranı kontrol numunesine göre önemli ölçüde azalmıştır. Yoğurdun toplam kuru maddesi arttıkça, yoğurdun gözenekliliği azalır, bu da yoğurdun stabilitesini artırır ve sinerezis oranını en aza indirir. Burada, nanokapsül eklenen yoğurtta maltodekstrin varlığından dolayı proniozom ilavesi ile suyun emilimi hızlandırılmakta ve dolayısıyla sinerezis süreci geciktirilmektedir (Ghorbanzade vd., 2017). Serbest ekstrakt oranının artmasıyla depolamanın ilk günü dışında yoğurt numunelerinde sinerezis oranı azalmıştır. Aslında bu sonuçlar, günlük depolama süresi boyunca pH'nın düşmesi ve bunun kazein miselleri üzerindeki etkisinin, sinerezis oranının minimizasyonuna yol açtığını göstermektedir.

4.6.4. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı renk değerleri

Renk, bütün gıdalarda tüketici için seçici ve önemli bir etkidir. Bu nedenle örneklerin depolama süresi boyunca renk ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sade yoğurt, 0,5 g proniozom eklenen ve eşdeğeri (83 mg) ekstrakt eklenen yoğurtların farklı depolama günlerinde ölçülen L*'nin yüksek değerleri parlak örnekleri gösterdiğinden, yoğurt örneklerinin açıklığını/beyazlığını görüntü işleme yoluyla incelemek için L* indeksi ile birlikte a* ve b* değerleri uygulanmış ve bulgular Tablo 4.9'da verilmiştir. Renkler şu şekilde ifade edilmektedir; L* değeri (Lightness) açıklık/koyuluk (L*0: siyah, L*100: beyaz), a* değeri (Redness) kırmızı/yeşil (+a*: kırmızı, -a*: yeşil), b* değeri (Yellowness) sarı/mavi (+b*: sarı, -b*: mavi) renklerini belirtir.

Tablo 4.9. Depolamanın yoğurdun renk özellikleri üzerine etkisi.

Günler	Örnekler	L*	a*	b*
1	Y	95,5 ± 0,05 ^c	-1,92 ± 0,00 ^a	6,25 ± 0,01 ^c
	Y+E	95,7 ± 0,06 ^b	-2,06 ± 0,01 ^b	7,73 ± 0,05 ^a
	Y+P	96,1 ± 0,03 ^a	-1,93 ± 0,00 ^a	7,27 ± 0,01 ^b
7	Y	91,4 ± 0,16	-2,09 ± 0,02	6,59 ± 0,16 ^b
	Y+E	91,5 ± 0,18	-2,07 ± 0,02	6,98 ± 0,18 ^a
	Y+P	91,4 ± 0,17	-2,07 ± 0,02	6,55 ± 0,06 ^b
14	Y	91,2 ± 0,34	-2,08 ± 0,01	6,65 ± 0,36
	Y+E	91,3 ± 0,22	-2,06 ± 0,02	7,04 ± 0,07
	Y+P	91,6 ± 0,13	-2,05 ± 0,04	6,64 ± 0,32

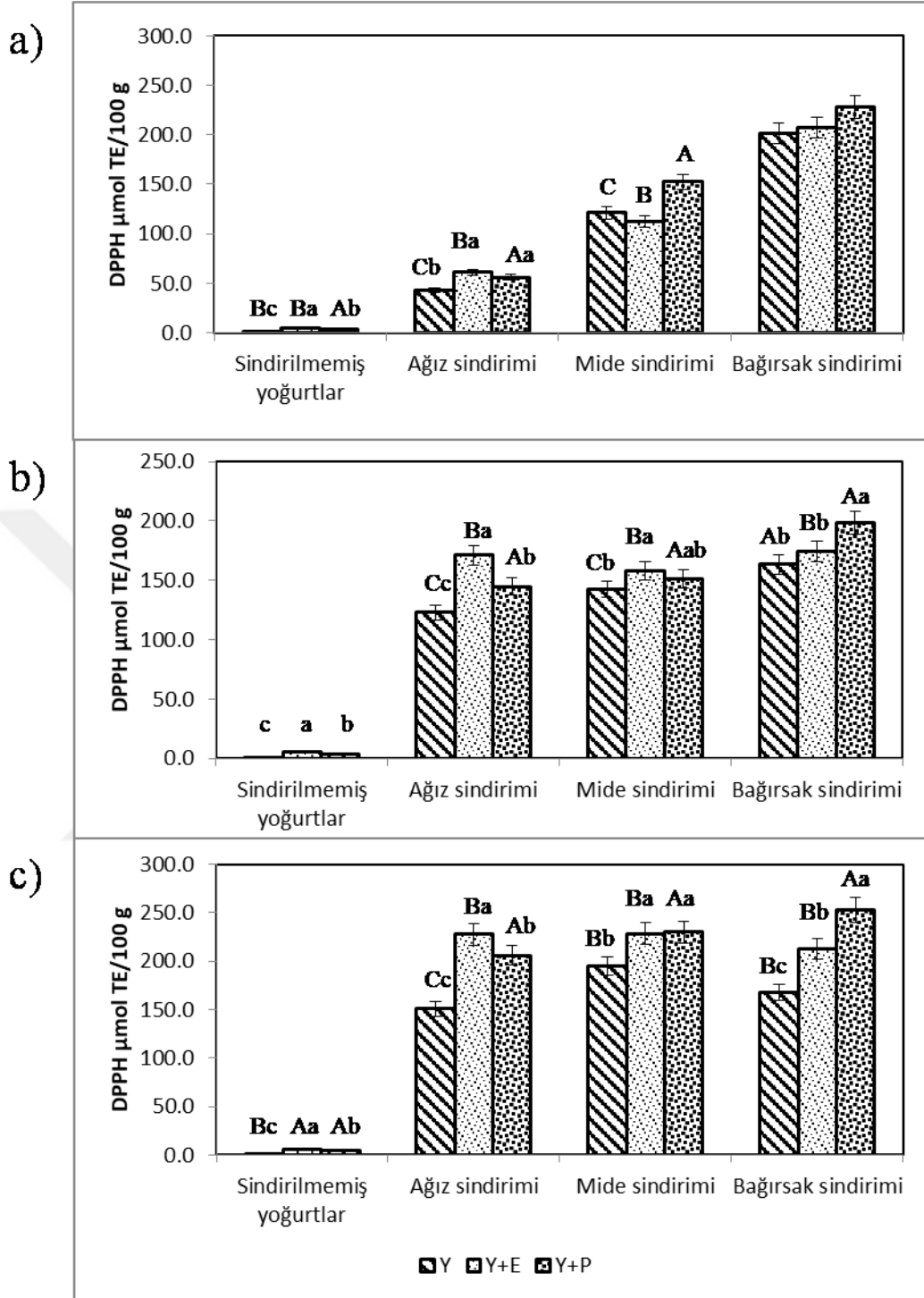
^{a-c} Sütun içerisinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Sonuçlara bakıldığında L* değerinin en yüksek belirlemelerinin depolamanın 1. gününde olduğu bulunmuştur (Tablo 4.9). Proniozom ve ekstrakt ilavesine rağmen yoğurttaki parlaklığın kontrol örneğine benzerliği, eklenen proniozom nanokapsülünün (0,5 g) parlaklığının yüksek olması ve serbest ekstrakt miktarının proniozomdaki hidroksitirozol içeriğinin eşdeğeri (83 mg) kadar eklenmesi ile yoğurt içerisindeki ekstraktın az miktarına bağlı olarak yoğurdun parlaklığını değiştirmediği yorumuyla açıklanabilir. Diğer yandan depolama süreci boyunca örneklerin değerlerinin birbirine yakın olması ve önemli bir fark olmaması, fermente süt ürünü olan yoğurtta açıklık-koyuluk renk özelliğinin korunduğunu göstermiştir. Ayrıca, depolamanın 7. ve 14. günlerinde olan L* değerindeki azalmanın muhtemelen matrisin yeni pH durumuna (pH değişimiyle aynı zamana denk gelmesine dayanarak) partikül adaptasyonu nedeni ile depolamanın 1. gününde gözlenenden daha düşük olduğunu söyleyebiliriz. García-Perez ve arkadaşları (2005), yaptıkları çalışmaya göre renk indekslerinin pH ile ilişkili olduğunu ve pH'ın azalmasının yoğurdun L* indeksinde azalmaya yol açabildiğini bulmuşlardır. Ayrıca yoğurt numunelerinin a* ve b* değerlerinde depolama süresince değişkenlik gözlenmemiş ve net bir davranış eğilimi göstermemişlerdir.

4.6.5. Yoğurt örneklerinde depolamaya bağlı *in vitro* sindirim analizleri

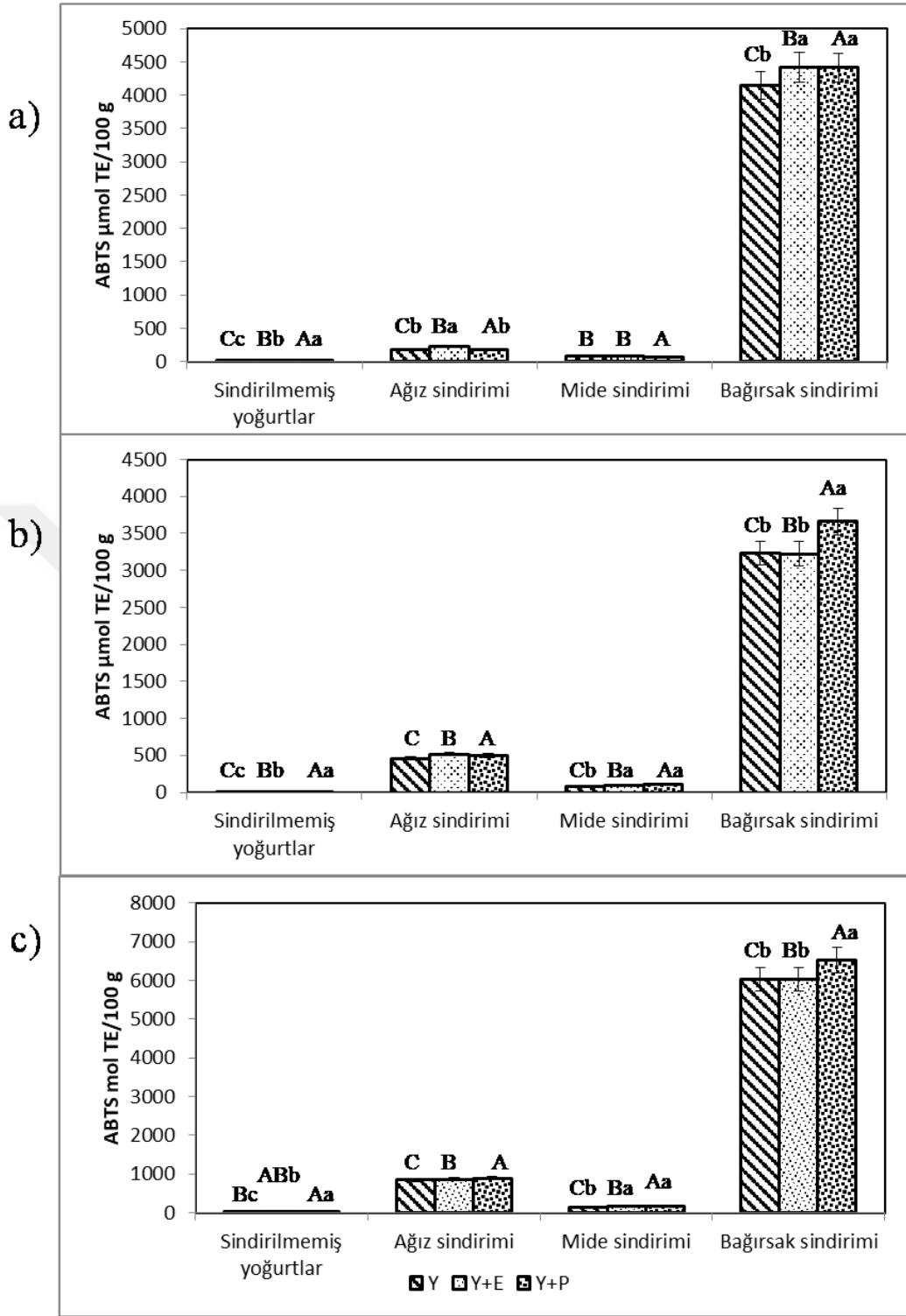
Seçilen miktarda kapsüllenmiş (0,5 g) ve serbest ZYE (83 mg) takviyesinin yoğurdun simüle edilmiş *in vitro* sindirim öncesinde ve sonrasında etkisi depolama günlerine göre DPPH ve ABTS ile belirlenen antioksidan kapasite değerlerinin belirlenmesiyle incelenmiştir. Şekil 4.22 ve 4.23, ZYE takviyesinin, kapsüllemenin ve simüle edilmiş *in vitro* sindirimin depolama aralıklarına göre yoğurttaki DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen antioksidan aktivite değişiklikleri üzerindeki etkisini göstermektedir. *In vitro* sindirimin depolama aralıklarına bakıldığında, depolamanın hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde biyoaktif bileşikler üzerinde önemli bir etkisi vardır.





^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. ^{A-B}Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler depolama günleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.22. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca *in vitro* sindirimin DPPH antioksidan kapasite üzerine etkisi.



^{a-b} Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. ^{A-B}Sütun üzerinde gösterilen farklı harfler depolama günleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Y: Kontrol yoğurt Y+E: Ekstrakt içeren yoğurt Y+P: Proniozom içeren yoğurt

Şekil 4.23. Proniozom ve ekstrakt içeren yoğurt örneklerinin depolama süresi boyunca *in vitro* sindirimin ABTS antioksidan kapasite üzerine etkisi.

DPPH yöntemi ile tayin edilen antioksidan aktivite sindirilmemiş örneklerde depolama süresince normal yoğurtta $0,48 \pm 0,001$ 'den $0,86 \pm 0,0006$ 'ya, ekstrakt eklenen örneklerde $5,1 \pm 0,004$ 'ten $5,4 \pm 0,001$ 'e, proniozom eklenen örneklerde ise $3,1 \pm 0,001$ 'den $4,2 \pm 0,002$ 'ye artmıştır. Depolama boyunca bağırsak fazı dışında tüm numunelerin DPPHyöntemi ile belirlenen antioksidan kapasitesinde sürekli bir artış gözlenmiştir. Sade yoğurdun antioksidan kapasite değeri bağırsak fazında 7. gün azalmış ($201,3 \pm 0,5$ 'ten $163,7 \pm 0,1$ 'e) ve 14. gün tekrar artmıştır ($163,7 \pm 0,1$ 'den $167,6 \pm 0,1$ 'e). Aynı şekilde ekstrakt eklenen yoğurt da bağırsak fazında 7. gün azalmış ($207,1 \pm 0,1$ 'ten $174,6 \pm 0,04$ 'e) ve 14. gün tekrar artmıştır ($174,6 \pm 0,04$ 'den $212,7 \pm 0,04$ 'e). Proniozom eklenen yoğurtta ise depolamanın ilk günü DPPHyöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değeri $228,3 \pm 0,3$ iken 7. gün $198,5 \pm 0,06$ 'ya düşmüş ardından $253,1 \pm 0,1$ 'e çıkmış ve örnekler arasında en yüksek değere ulaşmıştır.

ABTS yöntemi ile antioksidan kapasiteye bakıldığında, sindirilmemiş örneklerde depolama süresince normal yoğurtta $3,28 \pm 0,001$ 'den $6,43 \pm 0,0006$ 'ya, ekstrakt eklenen örneklerde $5,51 \pm 0,004$ 'ten $7,37 \pm 0,0006$ 'ya, proniozom eklenen örneklerde ise $7,27 \pm 0,003$ 'ten $7,82 \pm 0,0005$ 'e artmıştır. *In vitro* sindirim uygulanan numunelerde ise depolama boyunca mide fazı dışında tüm numunelerin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasitesinde sürekli bir artış gözlenmiştir. Tüm örneklerin ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite değerleri mide fazında azalma bağırsak fazında ise önemli bir artış göstermiştir. Bu değerler; sade yoğurtta $6028,1 \pm 1,03$ $\mu\text{mol TE}/100$ g, ekstrakt eklenen yoğurtta $6034,3 \pm 0,24$ $\mu\text{mol TE}/100$ g ve en fazla artış gösteren örnek olarak proniozom eklenen yoğurdun ABTS antioksidan kapasite değeri $6528,8 \mu\text{mol} \pm 1,4$ TE/100 g bulunmuştur. Bouayed ve arkadaşları (2011), elmaların simüle edilmiş sindiriminde, polifenollerin çoğunluğunun sindirimin gastrik fazında salındığını; simüle edilmiş bağırsak ortamı aşamasında ise eklenen fenolik salınımını %10'dan daha az bulmuşlardır. Ancak, çalışmamıza benzer şekilde, Flores ve arkadaşlarının (2015) yaptıkları kapsüllenmiş yaban mersini ekstraktlarının *in vitro* salım özelliklerinin araştırıldığı çalışmada, gastrik sindirim sırasında süpernatantta nispeten daha düşük konsantrasyonlarda fenoliklerin salındığı görülmüş, tüm numuneler bağırsak sindirimi sırasında önemli bir salınım (%56-68) göstermiştir. Burada, gastrik fazdaki düşük değerlerin, fenoliklerin peynir altı suyu proteinleri ve sindirimdeki diğer bileşenlerle birlikte çökmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Flores, Singh, Kerr, Philips ve Kong, 2014; McDougall, Dobson, Smith, Blake ve Stewart, 2005). Yapılan başka bir çalışmada, gastrik sindirimdeki

biyoerişilebilir fenoliklerin ve flavonoidlerin hem çözünebilir serbest formda hem de proteinler veya polisakkaritler gibi diğer bileşenlere kısmen bağlı olarak bulunduğunu veya çözünürlüğü ve dolayısıyla serumda diyaliz edilebilirliği azaltılmış mineral kompleksleri oluşturduğu öne sürülmüştür (Scalbert, Morand, Manach ve Rémésy, 2002). Bileşikler mide koşullarından kurtulur ve antioksidan olarak hareket edebilecekleri veya bağırsaktan/kolondan emilebilecek fenolik antioksidanlara biyolojik olarak dönüştürülebilecekleri kolona ulaşabilmektedirler (Aura, Martin-Lopez, O'Leary, Williamson, Oksman-Caldentey ve Poutanen, 2005).

Çalışmamızda, antioksidan kapasite analizleri sonucunda DPPH ve ABTS yöntemleri arasında da farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. DPPH yönteminde yoğurt örneklerinin antioksidan kapasitesi sindirimin fazlarıyla birlikte artarken, ABTS analizinde mide fazında düşmüş ardından bağırsak fazında önemli bir artışa geçmiştir. Burada, elde edilen sonuçların, DPPH ve ABTS radikallerinin kimyasal farklılıklarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Kim vd., 2002). Ayrıca farklılık, kullanılan *in vitro* sindirim koşullarıyla ve/veya matrisle ilişkili bileşiklerin salınımıyla ilişkili polifenol mevcudiyetindeki değişikliklerle ilgili olabilir (Ferreya vd., 2021). Bununla birlikte hem DPPH hem de ABTS yönteminde sindirim sonunda en yüksek kapasite proniozom eklenen yoğurt örneklerinde bulunmuştur. Polifenollerin salınımı sindirim sırasında artmış ve bağırsak fazında gastrik faza göre daha fazla olduğu görülmüştür; bu da proniozomal kapsülleme tekniğinin sindirim enzimlerine ve mide sindirimi sırasında meydana gelen pH değişikliklerine karşı koruyucu etkisini ortaya koymuştur. Depolamanın 14. gününde biyoaktif içeriğin en yüksek değerleri görülmüş ve bu örneklerde görüldüğü gibi depolamanın biyoerişilebilirlik üzerinde önemli bir etkisi olduğu bulunmuştur.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, hidroksitirozol içeriği zengin proniozomal zeytin yaprağı sıvı ekstraktı, niozomun toz formu olan proniozom ile kapsüllenmiş; fermentasyondan sonra ve fermentasyondan önce olmak üzere fermente süt ürünü olan yoğurt örneğine farklı miktarlarda (0,1 g - 0,5 g) eklenmiş ve kalite analizleri yapılarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca örneklerin depolama sürelerinin 1., 7. ve 14. günlerinde bazı fizikokimyasal ve *in vitro* sindirim analizleri yapılmıştır. Çalışmada dikkat çeken sonuçlar maddeler halinde verilmiştir:

- Hem fermentasyon öncesi hem de sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtların pH ve asitlik değerleri değişen miktarlarla beraber değişmemiş, benzer sonuçlar göstermiştir. Bununla birlikte, her iki üretimde proniozomal yapı eklenen yoğurt örneklerinin pH değerleri, ekstrakt eklenen yoğurt örneklerinin pH değerlerinden daha düşük bulunmuştur.
- Yoğurt örneklerinin su salma yüzdeleri (sinerezis) her iki üretimde de proniozom ve serbest ekstrakt konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Fermentasyon sonrası proniozom eklenen yoğurt örneklerinde daha yüksek oranda bir azalma gözlenmesiyle birlikte, her iki üretimde de proniozom eklenen örneklerde serbest ekstrakt eklenen örneklerle göre daha belirgin bir azalma olmuş ve yoğurtta faz ayrımını engellemek adına olumlu bir sonuç bulunmuştur.
- Fermentasyon öncesi ve sonrası farklı miktarlarda eklenen proniozom ve ekstraktlı örnekler arasında renk değerleri açısından önemli bir değişim görülmemiştir. Aynı şekilde numunelerin tekstür analizlerinde de önemli bir değişim görülmemiş ancak farklı miktarlarla birliktetüketici tarafından fark edilmeyecek düzeyde artma ve azalmalar gözlenmiştir.
- Her iki üretim için de artan miktarlarda proniozom ve ekstrakt ilave edilen yoğurt örneklerinde DPPH ve ABTS yöntemleri ile antioksidan kapasite sonuçları değerlendirilmiştir. DPPH yöntemi ile fermentasyon öncesi eklenen proniozomlu yoğurtlarda antioksidan kapasitefermentasyon sonrası eklenen proniozomlu yoğurtlardan daha yüksek bulunmuştur. ABTS yöntemi ile antioksidan kapasite sonuçlarının ise her iki üretimde de benzer olduğu görülmüştür.

- Fermentasyondan önce ve sonra eklenen artan proniozom miktarlarına göre yoğurt örneklerinin toplam fenolik madde miktarına bakılmış sonuçlar, üretim farklılığı nedeniyle düzensiz bir artmagöstermiştir.
- Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre hem fermentasyondan sonra hem de fermentasyondan önce farklı miktarlarda proniozom ve ekstrakt ilave edilmesinin yoğurtların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ve laktik asit bakteri sayısını bir miktar azalttığı fakat çok fazla değişime neden olmadığı gözlenmiştir. Maya-küf ve koliform sayım sonuçları ise üretilen yoğurt örneklerinin standartlara uygun olduğunu ve tüketim için mikrobiyal açıdan güvenli olduğunu göstermiştir.
- Artan miktarlarda proniozomal ve serbest ZYE ilave edilen yoğurt örneklerinin aroma bileşen profili analiz sonuçlarına göre, fermentasyon sonrası proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlarda toplamda 8 adet karboksilik asit, 4 adet aromatik hidrokarbon ve 1 adet keton aroma bileşeni; fermentasyon öncesi proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurtlarda ise 8 adet karboksilik asit, 1 adet aromatik hidrokarbon, 1 adet alkol, 1 adet keton ve 1 adet fenol aroma bileşeni tespit edilmiştir.
- *In vitro* sindirim analizi sonucunda yoğurda ekstrakt ve proniozomal ekstrakt ilave edilmesi, ürünün sindirim sonrasında hem DPPH hem de ABTS ile belirlenen antioksidan aktivitelerinde artışa sebep olmuş, sindirim sonunda fermentasyon sonrası üretimde fermentasyon öncesi üretime göre özellikle bağırsak fazında antioksidan kapasitenin dahayüksek olduğu bulunmuştur.
- Her iki üretimde de kontrol, proniozom ve ekstrakt ilaveli yoğurt örneklerinde duyu analizi parametreleri yakın değerler göstermiş, böylece üretilen yoğurtların tercih edilebilir fonksiyonel ürünler olabileceğideğerlendirmeyapılmıştır.
- Farklı miktarlarda fermentasyon öncesi ve sonrası proniozom (0,1 g - 0,5 g) ve serbest ekstrakt (16 mg – 83 mg) eklenen yoğurtlardan, üretim kolaylığı ve *in vitro* sindirim gibi daha iyi sonuç gösteren bazı analizler nedeniyle üretimlerden fermentasyon sonrası üretim, miktersal olarak ise 0,5 g proniozom ve eşdeğeri hidroksitirozol içeriğı ile serbest ekstrakt olarak 83 mg seçilmiş ve yoğurtların bazı depolama analizleri gerçekleştirilmiştir. 14 gün depolama süresince yoğurtların pH değerleri düşmüş asitlik değerleri artmıştır. İlk güne göre 7. gün azalan pH değeri 14. gün 7. güne göre yakın değerler göstermiştir. Depolamanın 7. günü pH değeri, 1. gününe göre

azalmıştır. Ayrıca renk ve sinerezis değerlerinde de aynı sonuç gözlenmiş, bunun pH değerlerinin bir sonucu olduğu çıkarımı yapılmıştır.

- Simüle edilmiş *in vitro* sindirim öncesinde ve sonrasında yoğurdun depolama günlerine göre DPPH ve ABTS ile belirlenen antioksidan kapasite sonucuna göre depolamanın biyoaktif bileşikler üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmüştür. Depolamanın 14. gününde biyoaktif içeriğin en yüksek değerleri görülmüş depolamanın biyoerişilebilirlik üzerinde önemli bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.



KAYNAKÇA

- Abd-Elbary A, El-Laithy H.M., Tadros M.I. Sucrose stearate-based proniosome-derived niosomes for the nebulisable delivery of cromolyn sodium. *Int J Pharm.* 2008; 357: 189-198.
- Abdul, N. K., Thimmaraju, D. R. (2019). Proniosomes: Innovative vesicular drug delivery system: A review. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 59(2), 44-51.
- Abdulkarem, K., A., Hasan, S., K.(2022). Effect of addition raw bacteriocin produced by *lactobacillus delbrueckii sub-sp. bulgaricus* on soft cheese. *Iraqi journal of market research and consumer protection.* 14(2), 90–102.
- Abedi, A. S., Rismanchi, M., Shahdoostkhany, M., Mohammadi, A., & Hosseini, H. (2016). Microencapsulation of *Nigella sativa* seeds oil containing thymoquinone by spray-drying for functional yogurt production. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2280–2289. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13208>.
- Acar, A. (2021). Therapeutic effects of royal jelly against sodium benzoate–induced toxicity: Cytotoxic, genotoxic, and biochemical assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(26), 34410–34425. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13172-6>.
- Ahmad M.Z., Akhter S, Mohsin N, Abdel-Wahab B.A., Ahmad J, Warsi MH, Rahman M, Mallick N, Ahmad F.J. Transformation of curcumin from food additive to multifunctional medicine: nanotechnology bridging the gap. *Curr Drug Discov Technol.* 2014; 11: 197-213.
- Ajrin, M., Anjum, F., (2022). Proniosome: A Promising Approach for Vesicular Drug Delivery. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences.* 19(4), 462.
- Akazawa, T., Itami, H., Furumoto, T., Nozaki, C., Koike, H., Iritani, S., Amimoto, N., Ogawa, M., 2021. Impact of an Olive Leaf Polyphenol 3,4-DHPEA-EDA on Physical Properties of Food Protein Gels. 69, 47, 14250–14258.
- Akgün, D., Gültekin-Özgüven, M., Yüceetepe, A., Altin, G., Gibis, M., Weiss, J., Özçelik, B. (2020). Stirred-type yoghurt incorporated with sour cherry extract in chitosan-coated liposomes. *Food Hydrocolloids*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105532>.
- Akhilesh, D., Faishal, G., & Kamath, J. V. (2012). Comparative study of carriers used in proniosomes. *Int J Pharm Chem Sci*, 3, 6-12.

- Alkhatib, A. 2020. Antiviral functional foods and exercise lifestyle prevention of coronavirus. *Nutrients*, 12(2633): 1-16.
- Alonso, L., and Fraga, M. J. (2001). Simple and rapid analysis for quantitation of the most important volatile flavor compounds in yogurt by headspace gas chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 39: 297–300.
- Altin, G., Gültekin-Özgüven, M., & Ozcelik, B. (2018). Chitosan coated liposome dispersions loaded with cacao hull waste extract: Effect of spray drying on physico-chemical stability and in vitro bioaccessibility. *Journal of Food Engineering*, 223, 91-98.
- Amoabediny, G.; Haghirsadat, F.; Naderinezhad, S.; Helder, M.N.; Kharanaghi, E.A.; Arough, J.M.; Zandieh-Doulabi, B. Overview of preparation methods of polymeric and lipid-based (niosome, solid lipid, liposome) nanoparticles: A comprehensive review. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 2018, 67, 383–400. [CrossRef]
- Anonim, (2006). Yoğurt Standardı, TS-1330. Türk Standartları Enstitüsü, 11 s., Ankara, 2006.
- Arslaner, A., Salik, M. A. and Bakirci, I. (2020). The effects of adding Hibiscus sabdariffa L. flowers marmalade on some quality properties, mineral content and antioxidant activities of yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 1-11.
- Aura, A. M., Martin-Lopez, P., O'Leary, K. A., Williamson, G., Oksman-Caldentey, K. M., Poutanen, K., et al. (2005). *In vitro* metabolism of anthocyanins by human gut microflora. *European Journal of Nutrition*, 44(3), 133–142.
- Azmin, M. N., Florence A. T., Handjani-Vila, R. M., Stuart, J. F., Vanlerberghe, G., Whittaker J. S., 1985. The effect of non-ionic surfactant vesicle (niosome) entrapment on the absorption and distribution of methotrexate in mice, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37(4), 237-242.
- Bao, H., Ni, Y., Wusigale, Dong, H., & Liang, L. (2020). α -Tocopherol and resveratrol in emulsion-filled whey protein gels: Co-encapsulation and in vitro digestion. *International Dairy Journal*, 104, Article 104649.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., Abdelkafi, S. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. *Lwt*, 84, 323–330.

- Bartolomei, M., Bollati, C., Li, J., Arnoldi, A., Lammi, C., 2022. Assessment of the cholesterol-lowering effect of MOMAST®: biochemical and cellular studies martina. *Nutrients* 14, 493. <https://doi.org/10.3390/nu14030493>.
- Benavente-García O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A., Del Rio J.A., 2000. Antioxidant Activity of Phenolics Extracted From *Olea europaea* L. Leaves. *Food Chemistry*, 68 (4): 457–462.
- Bertelli, M., Kiani, A.K., Paolacci, S., Manara, E., Kurti, D., Dhuli, K., Bushati, V., Miertus, J., Pangallo, D., Baglivo, M., Beccari, T., Michelini, S., 2020. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *J. Biotechnol.* 309, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.016>.
- Biju S.S., Talegaonkar S, Mishra P.R., Khar R.K. Vesicular systems: an overview. *Indian J Pharm Sci.* 2006; 68: 141-153.
- Bodyfelt, F.W., Tobias J. and Trout, G.M. 1988. *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. An Avi Book, Published by Van Nostrand Reinhold, New York, U.S.A.
- Bottari, B., Castellone, V., Neviani, E. 2020. Probiotics and COVID-19. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(3): 293-299.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14–21.
- Brodkorb, A., Lotti Egger, Marie Alminger, Paula Alvito, Ricardo Assunção, Simon Ballance, Torsten Bohn, Claire Bourlieu-Lacanal, Rachel Boutrou, Frédéric Carrière, Alfonso Clemente, Milena Corredig, Didier Dupont, Claire Dufour, Cathrina Edwards, Matt Golding, Sibel Karakaya, Bente Kirkhus, Steven Le Feunteun, Uri Lesmes, Adam Macierzanka, Alan R. Mackie, Carla Martins, Sébastien Marze, David Julian McClements, Olivia Ménard, Mans Minekus, Reto Portmann, Cláudia N. Santos, Isabelle Souchon, R. Paul Singh, Gerd E. Vegarud, Martin S. J. Wickham, Werner Weitschies & Isidra Recio. 2019. “INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion”, *Nature Protocols*; 14(4):991-1014.
- Budhwar, S. 2020. A rapid advice guideline for the prevention of novel coronavirus through nutritional intervention. *Current Nutrition Reports*, 9: 119–128.
- Calderon-Oliver, ' M., & Ponce-Alquicira, E. (2022). The role of microencapsulation in food application. *Molecules*, 27(5), 1499. <https://doi.org/10.3390/molecules27051499>.

- Chatzikonstantinou, A. V., Bellou, M. G., Spyrou, S., Papanikolaou, A., Simos, Y. V., Peschos, D., & Stamatis, H. (2024). Enhancement of the biological activity of hydroxytyrosol through its oxidation by laccase from *Trametes versicolor*. *Journal of Biotechnology*, 385, 30-41.
- Chen, F. P., Liu, L. L., & Tang, C. H. (2020). Spray-drying microencapsulation of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate: Encapsulation, water dispersion, bioaccessibility and bioactivities of curcumin. *Food Hydrocolloids*, 105, Article 105821. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105821>.
- Cheng, H. (2010). Volatile flavor compounds in yogurt: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10), 938–950. <https://doi.org/10.1080/10408390903044081>.
- Cifá, D.; Skrt, M.; Pittia, P.; Di Mattia, C.; Poklar Ulrih, N. Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction. *Food Sci. Nutr.* 2018, 6, 1128–1137. [CrossRef] [PubMed]
- Costantini, F., Di Sano, C., Barbieri, G., 2020. The hydroxytyrosol induces the death for apoptosis of human melanoma cells. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 8074. <https://doi.org/10.3390/ijms21218074>.
- Curci, F., Corbo, F., Clodoveo, M.L., Salvagno, L., Rosato, A., Corazza, I., Budriesi, R., Micucci, M., Mattioli, L.B., 2022. Polyphenols from olive-mill wastewater and biological activity: focus on irritable bowel syndrome. *Nutrients* 14. <https://doi.org/10.3390/nu14061264>.
- Czaja, T.; Baranowska, M.; Mazurek, S.; Szostak, R. Determination of nutritional parameters of yoghurts by FT Raman spectroscopy. *Spectrochim. Acta, Part A* 2018, 196, 413–417.
- da Silva Haas, I.C.; Toaldo, I.M.; Gomes, T.M.; Luna, A.S.; de Gois, J.S.; Bordignon-Luiz, M.T. Polyphenolic profile, macro-and microelements in bioaccessible fractions of grape juice sediment using in vitro gastrointestinal simulation. *Food Biosci.* 2019, 27, 66–74. [CrossRef]
- Dazıroğlu, M. E. Ç., Yıldız, M., Akbulut, G. 2020. Changes in food intake patterns during COVID-19 pandemic: a pilot study. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute*, 2(2): 38-44.
- Devaraj, G.N., Parakh, S. R., Devraj, R., Apte, S. S., Ramesh Rao, B. & Rambhau, D. (2002). Release studies on niosomes containing fatty alcohols as bilayer stabilizers instead of

- cholesterol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 251, 360–365.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16290741>.
- Diep, T. T., Yoo, M. J. Y., & Rush, E. (2022). Effect of In Vitro Gastrointestinal Digestion on Amino Acids, Polyphenols and Antioxidant Capacity of TamarilloYoghurts. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5).
- El, S.N.; Karakaya, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health. *Nutr. Rev.* 2009, 67, 632–638. [CrossRef] [PubMed]
- El-Azem, N., Pulido-Moran, M., Ramirez-Tortosa, C. L., Quiles, J. L., Cara, F. E., Sanchez-Rovira, P., Granados-Principal, S., Ramirez-Tortosa, M. C., 2019. Modulation by hydroxytyrosol of oxidative stress and antitumor activities of paclitaxel in breast cancer. 58(3), 1203-1211.
- Elmi, N., Gharbarzadeh, B., Ayaseh, A., Sahraee, S., Heshmati, M.K., Hoseini, M., Pezeshki, A. (2021). Physical properties and stability of quercetin loaded niosomes: Stabilizing effects of phytosterol and polyethylene glycol in orange juice model. *Journal of Food Engineering*, 296, 110463.
- El-Said, M. M., El-Messery, T. M., & El-Din, H. M. (2018). The encapsulation of powdered doum extract in liposomes and its application in yoghurt. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 17(3), 235-245.
- Espeso, J., Isaza, A., Lee, J. Y., Sørensen, P. M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R. D. J., ... & Arboleya, J. C. (2021). Olive leaf waste management. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 660582.
- Estrada, J. D., Boeneke, C., Bechtel, P. and Sathivel, S. (2011). Developing a strawberry yogurt fortified with marine fish oil. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5760-5769.
- Evivie, S.E., Abdelazez, A., Li, B., Bian, X., Li, W., Du, J., Huo, G., Liu, F. 2019. In vitro organic acid production and in vivo food pathogen suppression by probiotic *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1-9.
- Fang, Z., Bhandari, B., 2010. Encapsulation of polyphenols. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510-523.
- Farnsworth, J. P., Li, J., Hendricks, G. M., & Guo, M. R. (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65(1–2), 113–121.

- Farnworth, E. R., Jones, P. J. H. 2000. Consumption of fermented and nonfermented dairy products : effects on cholesterol concentrations and metabolism. *American Society for Clinical Nutrition*, 71: 674–681.
- Feng, Y., Niu, L., Sun, C., Tu, J., Yu, L., & Xiao, J. (2023). Collagen hydrolysates improve the efficiency of sodium alginate-encapsulated tea polyphenols in beads and the storage stability after commercial sterilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231, Article 123314. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123314>.
- Ferreira, S., Torres-Palazzolo, C., Bottini, R., Camargo, A., & Fontana, A. (2021). Assessment of in-vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds extracts recovered from grape vine bunch stem and cane by - products. *Food Chemistry*, 348(June 2020).
- Firtin, B., Yenipazar, H., Saygun, A., & Sahin-Yesilcubuk, N. (2020). Encapsulation of chia seed oil with curcumin and investigation of release behavior & antioxidant properties of microcapsules during in vitro digestion studies. *LWT - Food Science and Technology*, 134, Article 109947.
- Floegel, A, Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., Chun, O.K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043-1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>.
- Flores, F. P.; Singh, R. K.; Kerr, W. L.; Phillips, D. R.; Kong, F. In vitro release properties of encapsulated blueberry (*Vaccinium ashei*) extracts. *Food Chem.* 2015, 168, 225–232
- Galanakis, C. M.; Tsatalas, P.; Galanakis, I. M. Phenols from olive mill wastewater and other natural antioxidants as UV filters in sunscreens. *Environmental Technology & Innovation* 2018, 9, 160–168.
- Gao, Y., Wu, X., McClements, D. J., Cheng, C., Xie, Y., Liang, R., Liu, J., Zou, L., & Liu, W. (2022). Encapsulation of bitter peptides in water-in-oil high internal phase emulsions reduces their bitterness and improves gastrointestinal stability. *Food Chemistry*, 386, Article 132787. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132787>.
- García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M. J. M., Díaz-Castro, J., López Aliaga, I. 2020. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72: 1-11.

- García-Díaz, M., Patiño, B., Vázquez, C., Gil-Serna, J. (2019). A Novel Niosome-Encapsulated Essential Oil Formulation to Prevent *Aspergillus flavus* Growth and Aflatoxin Contamination of Maize Grains During Storage. *Toxins*, 11(11), 646.
- García-Pérez, F. J., Lario, Y., Fernández-López, J., Sayas, E., Pérez-Alvarez, J. A., & Sendra, E. (2005). Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. *Color Research & Application: Endorsed by Inter-Society Color Council, The Colour Group (Great Britain), Canadian Society for Color, Color Science Association of Japan, Dutch Society for the Study of Color, The Swedish Colour Centre Foundation, Colour Society of Australia, Centre Français de la Couleur*, 30(6), 457-463.
- George, T. T., Oyenih, A. B., Rautenbach, F., & Obilana, A. O. (2021). Characterization of moringa oleifera leaf powder extract encapsulated in maltodextrin and/or gum arabic coatings. *Foods*, 10(12), 1–19. <https://doi.org/10.3390/foods10123044>.
- Gharibzahedi, S. M. T.; Jafari, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends Food Sci. Technol.* 2017, 62, 119–132.
- Ghorbanzade, T.; Jafari, S. M.; Akhavan, S.; Hadavi, R. Nano encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chem.* 2017, 216, 146–152.
- Gibis, M., Zeeb, B., Weiss, J., 2014. Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes, *Food Hydrocolloids*, 38, 28-39.
- Gonzalez, E., Gomez-Caravaca, A. M., Gimenez, B., Cebrian, R., Maqueda, M., Parada, J., Martinez-Ferez, A., Segura-Carretero, A., & Robert, P. (2020). Role of maltodextrin and inulin as encapsulating agents on the protection of oleuropein during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 310, Article 125976.
- Green, B. K., & Scheicher, L. (2007). Pressure sensitive record materials (US Patent No. 10/576728).
- Gu, J., Liu, M., Li, L., Zhou, L., He, L., Deng, W., & Hu, J. (2023). Osmanthus fragrance polyurethane/silk fibroin-based double-shell microcapsules for aromatic leather with sustained release fragrance. *Flavour and Fragrance Journal*, 38(2), 73–82. <https://doi.org/10.1002/ffj.3727>.

- Gutiérrez, G., Matos, M., Barrero, P., Pando, D., Iglesias, O., Pazos, C. (2016). Iron-entrapped niosomes and their potential application for yogurt fortification. *Food Science and Technology*. 74, 550-556. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.025>.
- Helal, A., & Tagliazucchi, D. (2018). Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 164–170.
- Hirokyu O, Makino K, eds. *Colloid and interface science in pharmaceutical research and development*. Elsevier, 2017.
- Hu, C., & Rhodes, D. G. (1999). Proniosomes: A Novel Drug Carrier Preparation. *International Journal of Pharmaceutics*, 185(1), 23–35. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00122-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00122-2).
- Imhof, R., Glätti, H., & Bosset, J. O. (1994). Volatile Organic Aroma Compounds Produced by Thermophilic and Mesophilic Mixed Strain Dairy Starter Cultures 1994 *LWT Food Science and Technology. Lebensmittelwissenschaften Und Technologie*.
- Izadi, Z., Nasirpour, A., Garoosi, G. A., & Tamjidi, F. (2015). Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8), 5341–5346.
- Jabalbarezi Hukerdi, Y.; Fathi, M. H.; Rashidi, L.; Ganjkhanelou, M. The Study of Physicochemical Properties and Nutrient Composition of Mari Olive Leaf Cultivated in Iran. *Nutrition and Food Sciences Research* 2018, 5 (2), 39–46.
- Jamuna, R., & Ramakrishna, S. (1992). Continuous synthesis of thermostable α -amylase by bacillus cells immobilized in calcium alginate. *Enzyme and Microbial Technology*, 14(1), 36–41. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(92\)90023-h](https://doi.org/10.1016/0141-0229(92)90023-h).
- Joana Gil-Chávez, G.; Villa, J.A.; Fernando Ayala-Zavala, J.; Basilio Heredia, J.; Sepulveda, D.; Yahia, E.M.; González-Aguilar, G.A. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: An overview. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2013, 12, 5–23. [CrossRef]
- Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., & Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 1065–1072.
- Karimi Sani, I., Alizadeh Khaledabad, M., Pirsá, S., & Moghaddas Kia, E. (2020). Physico-chemical, organoleptic, antioxidative and release characteristics of flavoured

- yoghurt enriched with microencapsulated *Melissa officinalis* essential oil. *International Journal of Dairy Technology*, 73(3), 542-551.
- Katouzian, I.; Esfanjani, A. F.; Jafari, S. M.; Akhavan, S. Formulation and application of a new generation of lipid nano-carriers for the food bioactive ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* 2017, 68, 14–25.
- Katouzian, I.; Jafari, S. M. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends Food Sci. Technol.* 2016, 53,34–48.
- Kelebek, H., Kesen, S., Sonmezdag, A. S., Cetiner, B., Kola, O., & Selli, S. (2018). Characterization of the key aroma compounds in tomato pastes as affected by hot and cold break process. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2461-2474.
- Kılıç, S. 1990. Yoğurt kültürünü oluşturan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* bakterilerinin antibakteriyel özellikleri üzerinde bir araştırma. *Gıda Dergisi*, 15(6): 333-338.
- Kim, D.-O., Lee, K.W., Lee, H.J., Lee, C.Y., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3713–3717.
- Kim, S., Ahn, J., Seok, J. and Kwak, H. (2003). Microencapsulated iron for drink yogurt fortification. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(4), 581-587.
- Kopermsub, P.,Mayen V.,Warin, C., 2011. Potential use of niosomes for encapsulation of nisin and EDTA and their antibacterial activity enhancement, *Food Research International*, 44(2), 605-612.
- Kumar G.P., Rao P.R. Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery – an overview. *Acta Pharm Sinica B*. 2011; 1: 208-219.
- Lee-Huang S., Zhang L., Huang P.L., Chang Y.T., Huang P.L., 2003. Anti-HIV Activity of Olive Leaf Extract (OLE) and Modulation of Host Cell Gene Expression by HIV-1 Infection and OLE Treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307 (4): 1029–1037.
- Li, R., Tan, Y., Dai, T., Zhang, R., Fu, G., Wan, Y., Liu, C., & McClements, D. J. (2019). Bioaccessibility and stability of β -carotene encapsulated in plant-based emulsions: Impact of emulsifier type and tannic acid [10.1039/C9FO01370A]. *Food & Function*, 10(11), 7239–7252. <https://doi.org/10.1039/C9FO01370A>.

- Loumou A., Giourga C., 2003. Olive Groves: “The Life and Identity of The Mediterranean.” *Agriculture and Human Values*, 20 (1): 87–95.
- Malhotra M, Jain N.K. Niosomes as drug carriers. *Indian Drugs*. 1994; 31: 81-86.
- Markhali, F. S., Teixeira J. A. and Rocha C. M., *Processes*, 2020, 8(9), 1177.
- Markhali, F. S.; Teixeira, J. A.; Extractability of oleuropein, hydroxytyrosol, tyrosol, verbascoside and flavonoid-derivatives from olive leaves using ohmic heating (a green process for value addition), *Sustainable Food Technology*. 2024, 2, 461-469.
- McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., & Stewart, D. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5896–5904.
- Mena, B., Aryana, K. J. 2012. Influence of ethanol on probiotic and culture bacteria *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* within a therapeutic product. *Open Journal of Medical Microbiology*, 2: 70-76.
- Meor Hussin, A., Mohamad Said, N., Che Wan Sapawi, C. and Anzian, A. (2017). The properties of yogurt coconut shake and coconut shake. *Food and Applied Bioscience Journal*, 5(1), 50-68.
- Moghassemi S., Hadjizadeh A., 2014. Nano-niosomes as Nanoscale Drug Delivery Systems : An Illustrated Review. *Journal of Controlled Release*, 185, 22–36.
- Mohammadi, A.; Jafari, S. M.; Assadpour, E.; Esfanjani, A. F. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016, 82, 816–822.
- Monteiro, M., Silva, A. F. R., Resende, D., Braga, B. B., Coimbra, M. A., Silva, A. M. S., Cardoso, S. M., 2021. Strategies to Broaden the Applications of Olive Biophenols Oleuropein and Hydroxytyrosol in Food Products. 10(3), 444.
- Morakul, B., Teeranachaideekul, B., Buraphacheep Junyaprasert, V., 2019. Niosomal delivery of pumpkin seed oil: development, characterisation, and physical stability. *Journal of Microencapsulation*, 36(2), 120-129.
- Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin’s barrier function. *Pharm Sci Technol Today*. 2000;3:318-326.
- Najgebauer-Lejko, D., Sady, M., Grega, T., & Walczycka, M. (2011). The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(8), 568–574.

- Olabiran, T.E., Awolu, O.O., Ayo-Omogie, H.N., (2023). Quality chracterization of functional soy-based yoghurt incorporated with scent leaf (*Ocimum gratissimum*) essential oil microcapsules. *Food Chemistry Advances*, 3, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100336>.
- Öztürkoğlu-Budak, Ş, 2018. Süt ve Süt ürünlerinde Analiz Yöntemleri. Öner, Z., Şanlıdere Aloğlu, H. (Edt), 523-525, Sidas Yayınevi.
- Pando, D., Beltrán, M., Gerone, I., Matos, M., Pazos, C. (2015). Resveratrol entrapped niosomes as yoghurt additive. *Food Chemistry*, 170, 281- 287.
- Panesar, P. S. 2011. Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences*, 2: 47-51.
- Panizzi, L., M.L. Scarpati and G. Oriente. 1960. Chemical structure of oleuropein, bitter glucoside of olive with hypotensive activity. *Gazz. Chim. Ital.* 90:1449-1485.
- Peanparkdee, M., Borompichaichartkul, C., & Iwamoto, S. (2021). Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic acids, flavonoids, and anthocyanins of encapsulated Thai rice bran extracts during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 361, Article 130161.
- Pham, L. B., Wang, B., Zisu, B., Truong, T., & Adhikari, B. (2021). In-vitro digestion of flaxseed oil encapsulated in phenolic compound adducted flaxseed protein isolate- flaxseed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 112, Article 106325.
- Pham, L.B., Wang, B., Zisu B., Adhikari, B., 2019. Covalent modification of flaxseed protein isolate by phenolic compounds and the structure and functional properties of the adducts.30, 293, 463-471.
- Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Muñoz, I. B., Barreto, P. L., Prudêncio, E. S., & Amboni, R. D. (2012). Effects of the addition of microencapsulated Bifidobacterium BB-12 on the properties of frozen yogurt. *Journal of Food Engineering*, 111(4), 563-569.
- Pinto, S., Clemente, M. D. G., De Abreu, L. R. 2009. Behaviour of volatile compounds during the shelf life of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, vol. 62, no. 2, p. 215-223.
- Pires, T. C., Dias, M. I., Barros, L., Barreira, J. C., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2018). Incorporation of natural colorants obtained from edible flowers in yogurts. *LWT -Food Science and Technology*, 97, 668–675.

- Pourghorban, S., Yadegarian, L., Jalili, M., Rashidi, L. (2021). Comparative Physicochemical, Microbiological, Antioxidant, and Sensory properties of pre- and post-fermented yoghurt enriched with olive leaf and its extract. *Food Science & Nutrition*, 10(3), 751-762. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2704>.
- Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol*. 2008; 26:1261-1268.
- Qiu, L., Zhang, M., Mujumdar, A. S., & Chang, L. (2021). Effect of edible rose (*Rosa rugosa* cv. Plena) flower extract addition on the physicochemical, rheological, functional and sensory properties of set-type yogurt. *Food Bioscience*, 43, 101249.
- R.K., Sharma A.K., Ayaz M.D. Novel drug delivery system for the vesicular delivery of drug by the niosomes. *Int J Res Control Release*. 2011; 1: 1-8.
- Radunz, M., Camargo, T. M., Hackbart, H. C. S., Blank, J. P., Hoffmann, J. F., Stefanello, F. M., & Zavareze, E. R. (2021). Encapsulation of broccoli extract by electrospraying: Influence of in vitro simulated digestion on phenolic and glucosinolate contents, and on antioxidant and antihyperglycemic activities. *Food Chemistry*, 339, Article 128075.
- Rahmanian, N.; Jafari, S. M.; Galanakis, C. M. Recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2014, 91 (1), 1–18.
- Ravaghi, M., Sinico, C., Razavi, S. H., Mousavi, S. M., Pini, E., & Fadda, A. M. (2017). Proniosomal powders of natural canthaxanthin: Preparation and characterization. *Food Chemistry*, 220, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.162>.
- Reddy, K. T. K., Gandla, K. (2022). Novel Vesicular Drug Delivery Systems Proniosomes. *Pharm Res*, 6(3), 000272.
- Rezvani, M., Hesari, J., Peighambaroust, S.H., Manconi, M., Hamishehkar, H., Escribano-Ferrer, E. (2019). Potential application of nanovesicles (niosomes and liposomes) for fortification of functional beverages with Isoleucine-Proline-Proline: A comparative study with central composite design approach. *Food Chemistry*, 293, 368- 377.
- Rietjens SJ, Bast A, Haenen GR. New insights into controversies on the antioxidant potential of the olive oil antioxidant hydroxytyrosol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007;55:7609–14.
- Rysstad, G., Abrahamsen, R. K. (1987). Formation of volatile aroma compounds and carbondioxide in yogurt starter grown in cows' and goats' milk. *Journal of Dairy Research*, 54(2), 257-266.

- Saafi, EB, El Arem, A., Issaoui, M., Hammami, M., & Achour, L. (2009). Tunus'ta yetiştirilen dört hurma (*Phoenix dactylifera* L.) meyve çeşidinin fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi. *Uluslararası gıda bilimi ve teknoloji dergisi* , 44 (11), 2314-2319.
- Sahoo R.K., Biswas N, Guha A, Kuotsu K. Maltodextrin based proniosomes of nateglinide: bioavailability assessment. *Int J Biol Macromol.* 2014; 69: 430-434.
- Sanders, E. R. (2012). Aseptic laboratory techniques: plating methods. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (63), e3064.
- Sarabandi, K., & Jafari, S. M. (2020). Improving the antioxidant stability of flaxseed peptide fractions during spray drying encapsulation by surfactants: Physicochemical and morphological features. *Journal Of Food Engineering*, 286, Article 110131. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110131>.
- Saura-Calixto, F.; Serrano, J.; Goñi, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 2007, 101, 492–501.
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(6), 276–282.
- Seçmeler, Ö., ve Üstündağ Güçlü, Ö. (2016). Zeytinyağı Sektörü Atık ve Yan Ürünlerindeki Biyoaktif Maddelerin Değerlendirilmesi. *Dünya Gıda Dergisi*, May 2015.
- Selli, S., Kelebek, H., Kesen, S., & Sonmezdag, A. S. (2018). GC-MS olfactometric and LC-DAD-ESI-MS/MS characterization of key odorants and phenolic compounds in black dry-salted olives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11), 4104-4111.
- Shehata, T. M., Abdallah, M. H., & Ibrahim, M. M. (2015). Proniosomal Oral Tablets for Controlled Delivery and Enhanced Pharmacokinetic Properties of Acemetacin. *AAPS PharmSciTech*, 16(2), 375-383. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0233-5>.
- Shi, L.E., Li, Z.H., Li, D.T., Xu, M., Chen, H.Y., Zhang, Z.L., Tang, Z.X. (2013). Encapsulation of probiotic *Lactobacillus bulgaricus* in alginate–milk microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 99-104.
- Shori, A. B.; Baba, A. S. Comparative antioxidant activity, proteolysis and in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition of *Allium sativum*-yogurts made from cow and camel milk. *J. Saudi Chem. Soc.* 2014, 18 (5), 456–463.

- Shruthi, P. A., Pushpadass, H. A., Magdaline Eljeeva Emerald, F., Surendra Nath, B., & Laxmana Naik, N. (2021). Formulation and characterization of catechin-loaded proniosomes for food fortification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(6), 2439-2448.
- Silva, M. P., Mesquita, M. D. S., Rubio, F. T., Thomazini, M., & Favaro-Trindade, C. S. (2022). Fortification of yoghurt drink with microcapsules loaded with *Lactobacillus paracasei* BGP-1 and guaraná seed extract. *International Dairy Journal*, 125, 105230.
- Silva, S. C., Fernandes, I. P., Barros, L., Fernandes, A., Alves, M. J., Calhelha, R. C., Pereira, C., Barreira, J. C. M., Manrique, Y., Colla, E., Ferreira, I. C. F. R., & Barreiro, M. F. (2019). Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. *Journal of Functional Foods*, 60, Article 103427.
- Soni M.G., Burdock G.A., Christian M.S., Bitler C.M., Crea R., 2006. Safety Assessment of Aqueous Olive Pulp Extract as an Antioxidant or Antimicrobial Agent in Foods. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (7): 903–915.
- Sudjana, A. N., D’Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, TV, and Hammer, K. A., et al. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int. J. Antimicrob. Agents* 33, 461–463. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.026
- Sümer, S. K., Çiçek, G., ve Say, S. M. (2016). Çanakkale İlinde Zeytin Üretimi Artık Potansiyelinin Belirlenmesi ve Değerlendirme Olanaklarının Araştırılması. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 12(August 2016), 103–111.
- Şahin, S., Bilgin, M., Sayım, E., ve Güvenilir, B. (2017a). Effects of natural antioxidants in the improvement of corn oil quality: olive leaf vs. lemon balm. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 374–380. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13291>
- Tan, H. W., Tuck, K. L., Stupans, I., and Hayball, P. J. (2003). Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 785, 187–191. doi: 10.1016/S1570-0232(02) 00855-3
- Tan, P. Y.; Tan, T. B.; Chang, H. W.; Tey, B. T.; Chan, E. S.; Lai, O. M.; Baharin, B. S.; Nehdi, I. A.; Tan, C. P. Effects of storage and yogurt matrix on the stability of

- tocotrienols encapsulated in chitosan-alginate microcapsules. *Food Chem.* 2018, 241,79–85.
- Tang, P. L., Cham, X. Y., Hou, X., Deng, J., 2022. Potential use of waste cinnamon leaves in stirred yogurt fortification. *Food Bioscience*, 48.
- Tavakoli, H., Hosseini, O., Jafari, S. M., & Katouzian, I. (2018). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of yogurt enriched by olive leaf phenolics within nanoliposomes. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 66(35), 9231-9240.
- Tejada, S., Pinya, S., del Mar Bibiloni, M., A Tur, J., Pons, A., & Sureda, A. (2017). Cardioprotective effects of the polyphenol hydroxytyrosol from olive oil. *Current drug targets*, 18(13), 1477-1486.
- Thakur, N. S., Sharma, R., & Thakur, A. (2022). Optimization of lyophilized microencapsulated phenolic extract concentration for enrichment of yoghurt and effect on chemical parameters, bioactive compounds, antioxidant activity and sensory quality under storage. *South African Journal of Botany*, 151, 413-422.
- Usui, Y., Kimura, Y., Satoh, T., Takemura, N., Ouchi, Y., Ohmiya, H., Kobayashi, K., Suzuki, H., Koyama, S., Hagiwara, S., Tanaka, H., Imoto, S., Eberl, G., Asami, Y., Fujimoto, K., Uematsu, S. 2018. Effects of long-term intake of a yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038 and *Streptococcus thermophilus* 1131 on mice. *International Immunology*, 30(7): 319– 331.
- Vinderola, C. G., Mocchiutti, P., Reinheimer, J. A. 2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *Journal of Dairy Science*, 85(4): 721–729.
- Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998;247:60–4.
- Walve JR, Rane BR, Gujrathi NA, Bakaliwal SR, Pawar SP. Proniosomes: a surrogate carrier for improved transdermal drug delivery system. *Int J Res Ayurveda Res.* 2011;2:743-750.
- Waterman, E., and Lockwood, B. (2007). Active components and clinical applications of olive oil. *Altern. Med. Rev.* 12:331.
- Weiss J., Takhistov P., McClements D.J., 2006. Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71 (9): 107–116.

- Wouters, J. T. M., Ayad, E. H. E., Hugenholtz, J., Smit, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12: 91–109.
- Yan, C., Kim, S. R., Ruiz, D. R., & Farmer, J. R. (2022). Microencapsulation for food applications: A review. *ACS Applied Bio Materials*, 5(12), 5497–5512. <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00673>.
- Yan, X. X., Li, H., Wang, X. J., Hu, Z. H., Li, J. J., Zheng, H. B., Wang, J., & Zhen, Z. Y. (2024). From amino acid analysis to improved gel properties: The role of DL-valine in Landaise goose myofibrillar protein. *Food Chemistry: X*, 21, Article 101123. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101123>.
- Ydjedd, S., Bouriche, S., López-Nicolás, R., Sánchez-Moya, T., Frontela-Saseta, C., Ros-Berruezo, G., Kati, D. E. (2017). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and non encapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 827–835.
- Yin, C., Cheng, L., Zhang, X., & Wu, Z. (2020). Nanotechnology improves delivery efficiency and bioavailability of tea polyphenols. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), Article e13380. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13380>.
- Yuan, Y., Ma, M., Zhang, S., & Wang, D. (2023). Efficient utilization of tea resources through encapsulation: Dual perspectives from core material to wall material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(3), 1310–1324. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c07346>.
- Yue, H., Qiu, B., Jia, M., Liu, J., Wang, J., Huang, F., & Xu, T. (2020). Development and optimization of spray-dried functional oil microcapsules: Oxidation stability and release kinetics. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4730–4738. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1684>.
- Zahid, H. F., Ali, A., Ranadheera, C. S., Fang, Z., Dunshea, F. R., Ajlouni, S., 2022. In vitro bioaccessibility of phenolic compounds and alpha-glucosidase inhibition activity in yoghurts enriched with mango peel powder. *Food Bioscience*, 55.
- Zoidou, E., Melliou, E., Moatsou, G., & Magiatis, P. (2017). Preparation of functional yogurt enriched with olive – derived products. *Yogurt in Health and Disease Prevention*, (December), 203–220.

Zou X, Feng Z, Li Y, Wang Y, Wertz K, Weber P, et al. Stimulation of GSH synthesis to prevent oxidative stress-induced apoptosis by hydroxytyrosol in human retinal pigment epithelial cells: activation of Nrf2 and JNK-p62/SQSTM1 pathways. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2012; 23: 994–1006.

