

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**YOĞURT BAKTERİLERİNİN ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE
KAPSÜLASYONUNUN OPTİMİZASYONU VE KAPSÜLE YOĞURT
BAKTERİLERİNİN YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem HÖKELEKLİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**YOĞURT BAKTERİLERİNİN ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE
KAPSÜLASYONUNUN OPTİMİZASYONU VE KAPSÜLE YOĞURT
BAKTERİLERİNİN YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem HÖKELEKLİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

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

**YOĞURT BAKTERİLERİNİN ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE
KAPSÜLASYONUNUN OPTİMİZASYONU VE KAPSÜLE YOĞURT
BAKTERİLERİNİN YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

**Çiğdem HÖKELEKLİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından FYL-2020-5551 nolu proje ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞURT BAKTERİLERİNİN ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE
KAPSÜLASYONUNUN OPTİMİZASYONU VE KAPSÜLE YOĞURT
BAKTERİLERİNİN YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem HÖKELEKLİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/06/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN (Danışman)

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

Dr. Öğr. Üyesi Zafer ALPKENT

ÖZET

YOĞURT BAKTERİLERİNİN ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE KAPSÜLASYONUNUN OPTİMİZASYONU VE KAPSÜLE YOĞURT BAKTERİLERİNİN YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Çiğdem HÖKELEKLİ

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Haziran 2021; 107 sayfa

Yoğurt bakterileri olan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren starter kültürler kullanılarak sütün fermente edilmesiyle üretilen yoğurt, özellikle laktoz intoleranslı bireyler tarafından en çok tüketilen süt ürünlerinden bir tanesidir. Yoğurt bakterileri üretim, depolama ve tüketim sırasında karşılaştığı çeşitli stres koşullarına (sıcaklık ve pH gibi) karşı direnç gösterememektedir. Mikroorganizmaların çeşitli stres koşullarına karşı dayanımını sağlamak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmektedir. Elektropüskürtme ile kapsülasyon tekniği, çevresel koşullara karşı mikroorganizma dayanımını artıran yöntemlerden biridir.

Bu çalışmada kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltaj değeri değişkenlerinin optimizasyonu sağlanarak kapsül yükleme verimliliği en yüksek kapsüllerin, düşük pH değerindeki ortama (pH 2.5) karşı en dayanıklı kapsüllerin ve söz konusu bu iki özelliği bir arada bulunduran kapsüllerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca bu çalışmada, elde edilen kapsüllerin yoğurt üretiminde kullanım olanakları araştırılmıştır.

En yüksek yükleme verimliliğine sahip kapsülleri üretebilmek için peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8, voltaj değeri 19.60 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değeri 8.00 cm; düşük pH değerindeki ortamda en yüksek canlılıkta *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren kapsüllerin üretilmesi için peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 23.84/1.16, voltaj değeri 10.01 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değeri 16.82 cm; düşük pH değerindeki ortamda en yüksek canlılıkta *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek yükleme verimliliğine sahip kapsülleri üretebilmek için peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8, voltaj değeri 22.07 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değeri 8.00 cm olarak belirlenmiştir.

Yoğurt bakterilerini içeren kapsüller eklenen yoğurt örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerlerinin kontrol örneğine göre daha yüksek, viskozite ve sertlik değerlerinin ise daha düşük olduğu, serum ayrılması değerleri açısından yoğurt örnekleri arasında önemli farklılık olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Yoğurt örneklerinin duyusal analizi sonucunda kontrol örneklerinin görünüş ve tat puanlarının yoğurt bakterilerini içeren kapsüller eklenen yoğurt örnekler ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu; ancak koku ve genel beğeni puanları açısından yoğurt örnekleri arasında önemli farklılık olmadığı ($P<0.05$) bulunmuştur.

Kapsülasyon işleminin, dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçişi sırasında yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un canlılığını önemli düzeyde koruduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Dinamik *in vitro* gastrointestinal model, Elektropüskürtme, Yoğurt, Yoğurt bakterileri

JÜRİ: Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

Dr. Öğr. Üyesi Zafer ALPKENT

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF THE CAPSULATION OF YOGHURT BACTERIA BY ELECTROSPRAY METHOD AND INVESTIGATION OF USING POSSIBILITIES OF ENCAPSULATED YOGHURT BACTERIA IN YOGHURT PRODUCTION

Çiğdem HÖKELEKLİ

MSc. Thesis in Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

June 2021; 107 pages

Yoghurt which is produced by fermentation of milk using starter cultures containing *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* as yoghurt bacteria is one of the most consumed dairy products, especially by individuals with lactose intolerance. Yoghurt bacteria cannot resist against various stress conditions (such as temperature and pH, etc) encountered during production, storage and consumption. Various methods are being developed to provide resistance of microorganisms against various stress conditions. Electrospray encapsulation technique is one of the methods that increases the resistance of microorganisms against environmental conditions.

In this study, it is aimed to obtain capsules with the highest capsule loading efficiency, capsules with the highest resistant to low pH media (pH 2.5) and capsules with these two features together by optimizing variables in the coating solution such as whey protein isolate/inulin ratio, distance of the needle tip from the plane and voltage value. In addition in this study, the possibilities of using the obtained capsules in yoghurt production were investigated.

In order to produce the capsules with the highest loading efficiency, the whey protein isolate/inulin ratio of 16/8, the voltage value of 19.60 kV and the distance of the needle tip from the plane of 8.00 cm; in order to produce the capsules containing *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with their highest survival in low pH media, the whey protein isolate/inulin ratio of 23.84/1.16, the voltage value of 10.01 kV and the distance of the needle tip from the plane of 16.82 cm; in order to produce the capsules containing *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with their highest survival in low pH media and with highest loading efficiency, the whey protein isolate/inulin ratio of 16/8, the voltage value of 22.07 kV and the distance of the needle tip from the plane of 8.00 cm were determined.

It was determined that the pH and titration acidity values were higher and the viscosity and hardness values were lower, of the yoghurt samples with added the capsules containing the yoghurt bacteria than those of the control sample, and no significant difference ($P>0.05$) was detected in syneresis values of all yoghurt samples.

As a result of the sensory analysis of the yoghurt samples, it was found that the appearance and taste scores of the control samples were higher compared to those of the yoghurt samples with added to the capsules containing yoghurt bacteria; however, no significant difference ($P<0.05$) was found in the odour and general acceptability scores of all yoghurt samples.

It was detected that the encapsulation process significantly protected the viability of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in the yoghurt samples during passage through a dynamic *in vitro* gastrointestinal model.

KEYWORDS: Dynamic *in vitro* gastrointestinal model, Electrospray, Yoghurt, Yoghurt bacteria

COMMITTEE: Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

Asst. Prof. Dr. Zafer ALPKENT

ÖNSÖZ

Fonksiyonel gıdalara yönelik artan talep yenilikçi gıdaların üretimini teşvik etmektedir. Gerek Türk toplumunun gerekse farklı pek çok toplumun beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahip olan yoğurt, laktoz intoleranslı bireylerin önemli bir kısmının rahatlıkla tüketebildikleri fermente bir süt ürünüdür. Yapılan bu araştırmada; çevresel stres koşullarına karşı korunması amacıyla, gerçekleştirilen optimizasyon cevabına göre elektropüskürtme yöntemiyle kapsüle edilen *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterileri, yoğurt içerisine ilave edilmiş ve böylelikle yoğurdun insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerinin artırılmasına katkıda bulunulmaya çalışılmıştır. Söz konusu araştırmada, kapsül ve yoğurt örneklerinde bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak ortaya konulmuştur.

Göstermiş olduğu güven ile beraber bu çalışmaya en büyük desteği sağlayan, sahip olduğu bilgi ve tecrübeyle her zaman yolumu aydınlatan danışmanım Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN'e, çalışmalarına başladığım ilk günden itibaren bilgi, yardım ve sabrını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Firuze ERGİN'e, Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün tüm öğretim elemanlarına, lisansüstü öğrencilerine ve Yüksek Gıda Mühendisi Handan KOCABAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Yetiştirdikleri sayısız öğrenciden birisi olabilme şansına sahip olduğum ilkokul öğretmenim olan annem Vahide Gül HÖKELEKLİ ve babam Alaettin HÖKELEKLİ'ye göstermiş oldukları maddi ve manevi desteklerden ötürü, varlığıyla her zaman güvende olduğumu hissettiren, lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ablam Gülden YEŞİLYURT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Projeye verdikleri desteklerden ötürü Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. İnsan Beslenmesinde Süt ve Süt Ürünlerinin Önemi	3
2.2. Fermente Süt Ürünleri.....	3
2.2.1. Yoğurt	4
2.3. Probiyotik Gıdalar	5
2.4. Kapsülasyon Teknolojisi	7
2.4.1. Elektropüskürtme teknolojisi	11
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal	16
3.2. Metot	16
3.2.1. Elektropüskürtme yöntemiyle <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> bakterilerinin kapsülasyonu ve analizler.....	16
3.2.1.1. Kaplama çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi	17
3.2.1.2. Üretilen kapsüllerin özelliklerinin belirlenmesi	18
3.2.2. Yoğurt üretimleri ve analizler	19
3.2.2.1. Yoğurt üretimlerinde kullanılan rekonstitüye sütte yapılan analizler	20
3.2.2.2. Yoğurt örneklerinin bileşim analizleri	21
3.2.2.3. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca gerçekleştirilen analizler	21
3.2.2.4. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelin oluşturulması.....	22
3.2.2.5. İstatistiksel analizler	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> bakterilerinin elektropüskürtme yöntemiyle kapsülasyonunun optimizasyonu	25
4.1.1. Kaplama çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi	26

4.1.2. Kapsüllerin yükleme verimlilikleri	30
4.1.2.1. <i>S. thermophilus</i> bakterisi için kapsüllerin yükleme verimlilikleri	30
4.1.2.2. <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> bakterisi için kapsüllerin yükleme verimlilikleri	34
4.1.3. Kapsüllerin pH değeri 2.5 olan ortamdaki davranışları	37
4.1.3.1. Düşük pH değerindeki ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>S. thermophilus</i> sayısı.....	37
4.1.3.2. Düşük pH değerindeki ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı	41
4.1.4. Optimizasyon sonuçlarının deneysel olarak doğrulanması.....	47
4.1.5. Kapsüllerin SEM görüntüleri ve boyutları.....	50
4.1.6. FTIR sonuçları	58
4.1.7. DSC analiz sonuçları.....	62
4.2. Süt ve Yoğurtlarda Yapılan Analizlere Ait Sonuçlar	64
4.2.1. Yoğurt üretiminde kullanılan rekonstitüe sütün bileşimi.....	64
4.2.2. Yoğurt örneklerine ait analiz sonuçları	64
4.2.2.1. Yoğurt örneklerine ait kurumadde, yağ, protein ve kül miktarları.....	64
4.2.2.2. Yoğurt örneklerine ait pH değerleri	64
4.2.2.3. Yoğurt örneklerine ait titrasyon asitliği değerleri	67
4.2.2.4. Yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri.....	70
4.2.2.5. Yoğurt örneklerine ait viskozite değerleri.....	72
4.2.2.6. Yoğurt örneklerine ait sertlik değerleri	75
4.2.2.7. Yoğurt örneklerine ait mikrobiyoloji değerleri	78
4.2.2.8. Yoğurt örneklerine ait duyu analizi değerleri	86
5. SONUÇLAR	91
6. KAYNAKLAR	95
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Yoğurt Bakterilerinin Elektropüskürtme Yöntemi ile Kapsülasyonunun Optimizasyonu ve Kapsüle Yoğurt Bakterilerinin Yoğurt Üretiminde Kullanım Olanaklarının Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

28/06/2021

Çiğdem HÖKELEKLİ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

C	: Santigrat
cm	: Santimetre
cP	: Centi-poise
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
kV	: Kilovolt
M	: Molar
m ³	: Metreküp
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
U	: Ünite
L	: Litre
log	: Logaritma
Pa.s	: Paskal saniye
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
s	: Saniye
w/v	: Ağırlık/hacim
w/w	: Ağırlık/ağırlık
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μS	: Mikrosiemens

$\leq$	: Küçük veya eşit
$<$	: Küçük
$>$	: Büyük
%	: Yüzde

Kısaltmalar

ANOVA	: Varyans analizi
BB	:Box-Behnken
COVID-19	: Koronavirüs hastalığı 2019
D	: Depolama zamanı
DSC	: Differential Scanning Calorimeter-Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
GRAS	: Genel olarak güvenilir kabul edilen
HKT	: Hata kareler toplamı
IDF	: International Dairy Federation-Uluslararası Sütçülük Federasyonu
KDD	: pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde <i>S. thermophilus</i> ve <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> kapsüllerinin dayanıklılık değeri
Kob	: Koloni oluşturan birim
kV	: Kapsülasyon verimliliği
MRS	: De Man Rogasa Sharp
PLGA	: Poli (laktid-ko-glikolid)
Pre-R ²	: Tahminlenmiş regresyon katsayısı
PRESS	: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı
PVA	: Polivinil alkol
R ²	: Regresyon katsayısı

SD	: Serbestlik derecesi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
Tg	: Camı geçiş sıcaklığı
Ü	: Örnek çeşidi
YYM	: Yanıt Yüzey Metodu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
ΔH	: Entalpi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. (a) Elektropüskürtme uygulaması (Brushani ve Anandharamakrishnan 2014), (b) Elektropüskürtme yönteminde polimer jeti oluşumu (Jaworek ve Sobczyk 2008).	13
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan elektropüskürtme cihazı	18
Şekil 3.2. Yoğurt üretimi	20
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal sistem	24
Şekil 4.1. Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri üzerine etkisi	28
Şekil 4.2. Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri üzerine etkisi	29
Şekil 4.3. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, b: Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, c: Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu	32
Şekil 4.4. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, b: Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, c: Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu	36
Şekil 4.5. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, b: Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, c: Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu	40
Şekil 4.6. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, b: Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, c: Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu	44

Şekil 4.7. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre optimum noklardaki kapsüllerin SEM görüntüleri	51
Şekil 4.8. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül çevre uzunluğu üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, b: Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül çevre uzunluğu üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, c: Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül çevre uzunluğu üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu.....	57
Şekil 4.9. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme deseninde yer alan ve optimum noklardaki kapsüllerin FTIR spektrumları	59
Şekil 4.10. Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerleri.....	65
Şekil 4.11. Yoğurt örneklerine ait ortalama titrasyon asitliği değerleri.....	68
Şekil 4.12. Yoğurt örneklerine ait ortalama serum ayrılması değerleri	71
Şekil 4.13. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerleri	73
Şekil 4.14. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik değerleri.....	76
Şekil 4.15. Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş puanları.....	87
Şekil 4.16. Yoğurt örneklerine ait ortalama koku puanları.....	88
Şekil 4.17. Yoğurt örneklerine ait ortalama tat puanları.....	88
Şekil 4.18. Yoğurt örneklerine ait ortalama genel beğeni puanları	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme deseni.....	17
Çizelge 3.2. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelde sindirim	23
Çizelge 4.1. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme deseni.....	25
Çizelge 4.2. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerin elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri.....	26
Çizelge 4.3. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranlarının etkisi	27
Çizelge 4.4. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranlarının etkisi	28
Çizelge 4.5. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerindeki ve elde edilen kapsüllerdeki <i>S. thermophilus</i> sayısı ve kapsüllerin yükleme verimlilik değerleri	30
Çizelge 4.6. Kapsül yükleme verimliliği değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler	31
Çizelge 4.7. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerindeki ve elde edilen kapsüllerdeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı ve kapsüllerin yükleme verimlilik değerleri	34
Çizelge 4.8. Kapsül yükleme verimlilik değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler	35
Çizelge 4.9. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>S. thermophilus</i> sayısı	38
Çizelge 4.10. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>S. thermophilus</i> sayısı üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler	39

Çizelge 4.11. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı.....	42
Çizelge 4.12. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler	43
Çizelge 4.13. En yüksek kapsül yükleme verimliliği için belirlenen optimum noktalar.....	47
Çizelge 4.14. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki en yüksek <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısının elde edilebilmesi için belirlenen optimum noktalar.....	48
Çizelge 4.15. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki en yüksek <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı ve en yüksek kapsül yükleme verimliliği özelliklerinin her ikisinin de sağlaması amacıyla belirlenen optimum noktalar.....	49
Çizelge 4.16. Optimum noktalarda doğrulama deney sonuçları.....	50
Çizelge 4.17. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri	54
Çizelge 4.18. Optimizasyon cevabına göre elde edilen kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri.....	55
Çizelge 4.19. Kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve kapsüllerin çevre uzunluğu için model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler.....	55
Çizelge 4.20. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kapsüllerin entalpi (ΔH), kristalizasyon sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığı değerleri.....	63
Çizelge 4.21. Optimizasyon cevabına göre elde edilen kapsüllerin entalpi (ΔH), kristalizasyon sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığı değerleri	63
Çizelge 4.22. Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerleri.....	64
Çizelge 4.23. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen pH değerlerine ait ortalama varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.24. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	66
Çizelge 4.25. Yoğurt örneklerine ait ortalama titrasyon asitliği değerleri (%).....	67

Çizelge 4.26. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği değerlerine (%) ait ortalama varyans analiz sonuçları	68
Çizelge 4.27. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen titrasyon asitliği değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	69
Çizelge 4.28. Yoğurt örneklerine ait ortalama serum ayrılması değerleri (%).....	70
Çizelge 4.29. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen serum ayrılması (%) değerlerine ait ortalama varyans analiz sonuçları	71
Çizelge 4.30. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen serum ayrılması (%) değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	72
Çizelge 4.31. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerleri (Pa.s) değerleri.....	73
Çizelge 4.32. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen viskozite değerlerine (Pa.s) ait ortalama varyans analiz sonuçları	74
Çizelge 4.33. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen viskozite (Pa.s) değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	74
Çizelge 4.34. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik analizi değerleri (g) değerleri	75
Çizelge 4.35. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen sertlik değerlerine (g) ait ortalama varyans analiz sonuçları	76
Çizelge 4.36. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen sertlik (g) değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	77
Çizelge 4.37. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçişi süresince yoğurt örneklerinde bulunan <i>S. thermophilus</i> 'a ait sayım sayıları (log kob/g)	79
Çizelge 4.38. Depolama süresince dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen <i>S. thermophilus</i> 'un sayım sonuçlarına ait varyans analiz sonuçları	80
Çizelge 4.39. Depolama süresince dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen <i>S. thermophilus</i> sayım sonuçlarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	80
Çizelge 4.40. Dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçiş süresince yoğurt örneklerinde bulunan <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 'a ait sayım sonuçları (log kob/g)	82
Çizelge 4.41. Depolama süresince dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 'un sayım sonuçlarına ait varyans analiz sonuçları.....	83

Çizelge 4.42. Depolama süresince dinamik <i>in vitro</i> gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayım sonuçlarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	84
Çizelge 4.43. Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanları.....	87
Çizelge 4.44. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen görünüş ve koku puanlarına ait ortalama varyans analiz sonuçları	89
Çizelge 4.45. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen tat ve genel beğeni puanlarına ait ortalama varyans analiz sonuçları.....	90
Çizelge 4.46. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanlarına ait ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	90

1. GİRİŞ

Gıda ve tıp alanlarındaki bilimsel gelişmeler, tüketicilerin dengeli ve sağlıklı beslenme konusundaki bilincini attırmaktadır (Rogelj 2000). Birey sağlığının korunması ve sürdürülmesinde, yeterli ve dengeli beslenme önemli bir yer tutmaktadır. Yeterli ve dengeli beslenme, vücudun ihtiyacı olan enerji ve besin öğelerinin her gün ihtiyaç duyulan miktarlarda alınması olarak tanımlanmaktadır. Tükettiğimiz gıdalar aracılığı ile vücudun ihtiyacı olan enerji ve besin öğeleri vücudumuza alınmaktadır. Süt ve süt ürünleri; bileşiminde bulunan değerli proteinler, mineral maddeler, esansiyel yağ asitleri, amino asitler, suda çözünebilen vitaminler ve biyoaktif bileşenler bakımından zengin olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, süt ve süt ürünleri bireylerin dengeli ve yeterli beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir (Anonim 2019; Ünal ve Besler 2019; Khan vd. 2019).

En önemli süt ürünlerinden biri olan yoğurt, yoğurt bakterileri *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren starter kültürler kullanılarak sütün fermente edilmesiyle üretilen bir süt ürünüdür (Anonim 2009). Ülkemizde evlerde yapılabilmesi ve pek çok yiyeceklerle birlikte tüketilebilmesi gibi nedenlerle tüketimi yaygın olan yoğurdun, üretim miktarı artış göstermektedir. Yoğurt üretimi ülkemizde 2019 yılında 1.18 milyon tona, kişi başı yoğurt tüketimi ise 29.5 kg'a ulaşmıştır (Anonim 2020).

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un da içerisinde yer aldığı laktik asit bakterileri; GRAS (Generally regarded as safe-genel olarak güvenilir) kabul edilmekte ve yoğurt, ayran ve peynir gibi süt ürünlerinin de dahil olduğu pek çok gıdanın üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca, sağlıkla ilgili faydalarının ortaya konulması ile bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik mikroorganizmalar olarak gıdaların üretiminde kullanımı giderek artmaktadır (Matsuzaki ve Chin 2000; Carr vd. 2008; Kazancıgil 2018).

Son yıllarda gerek bilimsel araştırmalar gerekse toplumun geneli dikkate alındığında probiyotik gıdalara olan ilginin giderek arttığı görülmektedir (Zoghi vd. 2020). Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için patojen ve toksijenik olmaması, mide asidi ve safra tuzlarına direnç göstermesi, ince bağırsağın hücre epiteline tutunması, gastrointestinal sistemde geçici olarak kolonize olması, doğal floraya uyum sağlaması ve konakçının sağlığı üzerine olumlu etkiler göstermesi gerekmektedir (Taşdemir 2017). Probiyotik mikroorganizmalar, insan bağırsağına yerleşerek patojen mikroorganizmaların gelişimini engellemekte ve konakçının bağırsağında mikrobiyal dengeyi sağlamaktadırlar. Bağırsak enfeksiyonlarının kontrolünde, kolesterol seviyesinin dengelenmesinde, laktoz sindiriminin artırılmasında probiyotik mikroorganizmaların yararlı etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Krasaekoopt vd. 2003).

Guarner vd. (2005), konakçının sağlığına yararlı etkilerinden dolayı *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren yoğurdun, probiyotik bir süt ürünü olarak düşünülebileceğini bildirmişlerdir. Ancak, yoğurt bakterilerinin sindirim sistemi koşullarında yaşama yetenekleri oldukça düşüktür (Vodnar vd. 2010). Laktik asit bakterilerinin canlılığını korumak ve potansiyel probiyotik özelliklerinden faydalanmak amacıyla teknolojik yöntemlerin geliştirilmesi

oldukça önemlidir. Kapsülasyon teknolojisi; gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücre ve diğer materyallerin küçük kapsüller içerisine hapsedilmesi olarak tanımlanmaktadır. Gıdanın işlenmesi ve depolanması sırasında değişen nem, sıcaklık ve diğer ekstrem koşullara karşı aktif materyalin stabilitesinin korunmasında kullanılan en etkili yöntemlerden biri kapsülasyondur. Çeşitli gıda bileşenlerinin olumsuz çevre koşullarına karşı korunması amacıyla yapılan kapsülasyon uygulamasında farklı teknikler kullanılabilmektedir (Gibbs vd. 1999; Shi vd. 2013a; Shi vd. 2013b).

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin çeşitli stres koşullarında canlı kalabilmesi için farklı birçok kapsülasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada; yoğurt bakterileri olan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, elektropüskürtme yöntemiyle kapsüllendikten sonra yoğurt üretiminde kullanılmıştır. Çalışmada, elektropüskürtme koşulları (voltaj, toplayıcı-plaka arası uzaklık ve kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı) Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak yoğurt bakterilerini içeren, düşük pH'ya karşı en dayanıklı ve kapsül yükleme verimliliği en yüksek kapsülleri elde etmek amacıyla optimize edilmiştir. Optimizasyon sonucunda; düşük pH'ya karşı en dirençli, kapsül yükleme verimliliği en yüksek ve söz konusu iki özelliği bir arada bulunduran, yoğurt bakterilerini içeren kapsüller elde edilmiştir. Üretilen üç farklı kapsüle formdaki yoğurt bakterileri 4°C'de 1 gün depolanan yoğurtlara ilave edilmiş ve yoğurt örneklerinin 4°C'de depolama sırasında bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri tespit edilmiştir. Yoğurt örnekleri depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde *in vitro* gastrointestinal sistemden geçirilmiş ve yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin canlılığı belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda; *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin gerek yoğurdun depolanması sırasında gerekse yoğurdun tüketimi sonrasında model gastrointestinal sistemde karşılaştığı olumsuz koşullara karşı canlılıklarını koruması sağlanmıştır. Böylece, yüzyıllardır insanoğlunun en temel besin maddelerinden bir tanesi olan yoğurdun fonksiyonel özelliklerinin geliştirildiği ve insan sağlığına daha faydalı olabilecek niteliklerde yoğurt üretimine katkı sağlayabilecek bilimsel veriler elde edildiği değerlendirilmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. İnsan Beslenmesinde Süt ve Süt Ürünlerinin Önemi

Toplumların beslenmesinde; nüfus artışı, tarım politikaları, bireylerin sosyoekonomik ve sosyokültürel durumları etkili olmaktadır. Beslenme alanında yapılan araştırmalar; yeterli ve dengeli beslenmenin birey sağlığını doğrudan etkilediğini, ayrıca çeşitli gıdaların ve bazı gıda bileşenlerinin bireylerde hastalık riskini azalttığını ortaya koymuştur. Buna karşılık, yetersiz beslenme halen dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bireylerde beslenmenin yetersiz ve dengesiz olması durumunda bağışıklık sistemi düzgün çalışmamakta ve buna bağlı olarak hastalık riski artmaktadır (Albers vd. 2005; Kau vd. 2011; Cardenas vd. 2019; Lean 2019).

Tüm bireyler için temel gıda maddelerinden biri olan süt; bileşiminde bulunan proteinler, lipitler ve oligosakkaritler ile gastrointestinal sistemde yüksek işlevsellik sağlayarak bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Ebringer vd. 2008; Popescu ve Angel 2009; Kubicová vd. 2019). Süt, süt ürünleri ve diğer hayvansal gıdalar çok sayıda temel besin maddesini içeren diyet kaynakları olarak kabul edilmektedir (Haug vd. 2007; Dror ve Allen 2011). Süt; yeni doğan bebeğin çevre şartlarına adaptasyonunu kolaylaştıran besin maddelerini sağlamasının yanı sıra bileşiminde bulunan değerli bileşenlerden dolayı insanların ve hayvanların beslenmeleri için oldukça önemlidir (Wouters vd. 2002; Ebringer vd.2008; Popescu ve Angel 2009). Biyolojik aktiviteleri farklılık göstermekle birlikte, sütün bileşiminde bulunan kazein, β -laktoglobulin, α -laktalbumin, immünoglobulinler, laktoferrin ve serum albümini gibi proteinlerin bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Süt yağı, fonksiyonel özelliklere sahip bir dizi bileşeni içermektedir. Kemik gelişimi için oldukça önemli olan A, D ve B₁₂ vitaminleri açısından değerli bir kaynak olmasının yanı sıra süt, riboflavin, kalsiyum, fosfor, magnezyum, potasyum ve çinko gibi insan sağlığı için oldukça önemli bazı vitaminlerin ve mineral maddelerin de kaynağıdır. Bununla birlikte, yaşamın her döneminde gerekli olan sütün C vitamini ve demir dışında tüm besin maddeleri için iyi bir kaynak olduğunu ve insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin bulunduğunu gösteren araştırmalar da mevcuttur (Ebringer vd. 2008; Anonim 2019).

Süt, gıda sanayinde önemli bir hammadde olarak değerlendirilmektedir (Akbulut ve Karagözlü 2014). Dünya genelinde ve ülkemizde sütler, içme sütlerinin yanı sıra fermente süt ürünlerinde de içinde yer aldığı farklı pek çok süt ürününün üretiminde kullanılmaktadır (Karaçıl ve Acar Tek 2013).

2.2. Fermente Süt Ürünleri

Süt sadece yeni doğan ve yetişkin memeliler için değil, çeşitli mikroorganizmalar için de yüksek besinsel değere sahiptir (Fernandes 1987; Wouters vd. 2002). Süte aşıl原因an insan sağlığına yararlı bakterilerin aktiviteleri sonucu, fermente süt ürünleri elde edilmektedir (Fernández vd. 2015; Volokh 2019; García-Burgos vd. 2020). Fermantasyon, gıdaların muhafazasında bilinen en eski yöntemlerden biridir. Milattan Önce 100-150 yılları arasında sütlerin, çiğ sütte doğal olarak bulunan mikroorganizmalarla fermente edilerek üretildiğini gösteren bulgular mevcut olup, dünyanın hemen her yerinde bu şekilde üretilmiş olan her biri kendine has özelliklere sahip çeşitli süt ürünleri bulunmaktadır (Wouters vd. 2002; Panesar 2011; Yücel

Şengün 2011; Demirgül ve Sağdıç 2018). Fermente süt ürünleri, sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu ile pH değerinin pıhtılaşmaya yol açacak veya açmayacak şekilde düşürülmesi sonucu oluşmakta ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda, canlı ve aktif olarak bulundurmaktadır (Anonim 2009). Fermente süt ürünlerinin çoğu laktik asit bakterilerini (Laktobasiller, Streptokoklar, Lökönostok türleri, Enterokoklar ve Laktokoklar) içermekle beraber diğer bakterileri, mayaları ve küfleri de bulundurabilmektedir. Fermente süt ürünlerinin karakteristiği; üretimde kullanılan sütün kaynağına, süte uygulanan ön işlemlere, fermentasyon koşullarına ve uygulanan teknolojik işlemlere bağlı değişmektedir (Wouters vd. 2002; Fernández vd. 2015; Erginkaya vd. 2017; García-Burgos vd. 2020). Fermente süt ürünlerinde sütte doğal olarak bulunan bileşenlere ek olarak mikroorganizma faaliyeti sonucu oluşan vitaminler, biyoaktif peptitler, γ -aminobütirik asit gibi bileşenler de bulunmakta ve bu bileşenler fermente süt ürünlerinde yapısal ve duyuşsal özellikleri geliştirmektedir (Ebringer vd. 2008; Fernández vd. 2015). Çiğ süt ile kıyaslandığında pek çok fonksiyonel bileşiğin fermente süt ürünlerinde daha fazla bulunduğu ortaya konulmuştur (Wouters vd. 2002; Turki vd. 2009; Fernández vd. 2015; Erginkaya vd. 2017; García-Burgos vd. 2020). Tüketicilerin fermente süt ürünlerine olan ilgisi; yeni işleme tekniklerinin geliştirilmesi, sosyoekonomik ve sosyokültürel şartların değişmesi ve fermente süt ürünlerinin sağlık üzerine etkilerinin ortaya konulması ile birlikte giderek artmaktadır. Fermente süt ürünlerinin bireylerde çeşitli metabolik bozuklukları azalttığını, patojen mikroorganizmaların gelişimini engellediğini, ayrıca obezite, kardiovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser türlerinin oluşumun önlenmesine katkıda bulunduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Fernández vd. 2015; González ve Arboleya 2019; García-Burgos vd. 2020).

Fermente süt ürünlerinin tüketimi toplumlar arasında farklılık göstermekle beraber dünya çapında sağlıklı bir gıda olarak tüketicilerin kabulünü kazanan yoğurt, en çok tüketilen fermente süt ürünlerinden bir tanesidir (Mckinley 2005, Prentice 2014).

2.2.1. 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 sahip olan yoğurt, fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilmektedir. Yoğurdun insan sağlığı üzerine olumlu yönde önemli etkileri olduğunu gösteren pek çok çalışma yapılmıştır (Farnworth ve Jones 2000; Wouters vd. 2002; García-Burgos vd. 2020). Yoğurt üretiminde kullanılan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un oluşturdukları laktik asit ve protein bazlı bileşikler aracılığıyla insan sağlığını tehdit eden patojen bakterilerle birlikte birçok saprofit bakterinin de çalışmasını engellediği belirtilmiştir (Kılıç 1990). Yoğurt bakterileri olarak ifade edilen *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 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. Yoğurt, lezzet ve yapısal özellikleri

açısından tüketici tarafından beğenilmektedir. Yoğurttaki en önemli karakteristik lezzet bileşenlerden biri olan asetaldehit, yoğurt bakterilerinin metabolik aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Yoğurdun tekstürel özellikleri çoğunlukla üretim teknolojisinin bir sonucu olarak şekillenmekle beraber, yoğurt bakterilerinin ürettiği ekzopolisakkaritler de yoğurtta tekstürel özellikleri olumlu yönde etkilemektedir (Vinderola vd. 2002a; Wouters vd. 2002). Yoğurt besleyici değerinin yanı sıra çeşitli hastalıkların önlenmesinde de etkili olmaktadır (Panesar 2011; García-Burgos vd. 2020). Ayrıca yoğurdun bireylerde bağışıklık sistemini güçlendirerek, 2019 yılının sonlarından itibaren tüm dünyayı etkisi altına alan korona virüs (COVID-19) hastalığının önlenmesine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (Alkhatib 2020; Bottari vd. 2020; Budhwar 2020; Dazıroğlu vd. 2020).

Yoğurt bakterileri olan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, genel anlamda probiyotik mikroorganizmalar olarak kabul görmemekte ve doğal olarak yoğurt da probiyotik bir gıda olarak nitelendirilmemektedir. Yoğurt bakterilerinin probiyotik mikroorganizma olarak değerlendirilebilmeleri için çeşitli stres koşullarına karşı direnç göstererek konakçının sağlığında yararlı etkiler meydana getirmeleri gerekmektedir. 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 görebilecektir. (Guarner vd. 2005). Bunların yanı sıra *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 vd. 2018, Evivie vd. 2019).

2.3. Probiyotik Gıdalar

Probiyotik gıdalar, fonksiyonel ürünler grubuna girmekte ve dünya fonksiyonel ürün pazarının %65'ini oluşturmaktadır (Burgain vd. 2011). Üretimlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanılması ile süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel özellikleri geliştirilmektedir (Vinderola vd. 2002b; Panesar 2011; García-Burgos vd. 2020). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından desteklenen uzmanlar komitesinin belirlediği ortak tanıma göre probiyotikler; yeterli miktarda alındığında konakçının sağlığında yararlı etki meydana getiren mikroorganizmalardır (Anonymous 2001). Gastroenteroloji Örgütü tarafından 2013 yılında probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotikler ile ilgili olarak yayımlanan kılavuzlarda probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığına yararlı etkiler gösterebilmesinde probiyotik mikroorganizma alım dozunun ve suşunun çok etkili olduğu belirtilmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların mide sıvısından ve safra tuzlarından etkilenmeden konakçı bağırsağına ulaşması gerekmektedir. Konakçının gastrointestinal sisteminde yeterli sayıda bulunan probiyotik mikroorganizmalar, epitel yüzeylerin reseptör bölgelerine tutunarak patojen mikroorganizmaları inhibe edebilmekte ve muzokal yenilenmeyi sağlayabilmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar patajenlere karşı doğrudan aktivite göstermelerinin yanı sıra organik asitlerler, hidrojen peroksit, diasetil, kısa zincirli yağ asitleri, biyosürefektanlar ve bakteriyosinler üreterek de patojen mikroorganizmaları inhibe edebilmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar, çeşitli gıdaların ve gıda takviyelerinin üretimlerinde ve eczacılıkta kullanılabilmektedir. İnsan sağlığı açısından oldukça önemli bir yere sahip

olan probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sistem koşullarında %100 oranında canlılıklarını korumaları oldukça güçtür (Vinderola vd. 2002b; Huq vd. 2013). Düşük pH, yüksek oksijen içeriği, sıcaklık ve diğer mikroorganizmaların varlığı gibi çeşitli stres koşulları probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını kaybetmesine yol açabilmektedir (Farnworth ve Jones 2000; Ebringer vd. 2008; Fernández vd. 2015)

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un da dahil olduğu laktik asit bakterilerinin hava, nem, sıcaklık ve pH gibi çevre koşulları değişkenlerine karşı hassas olduğu belirtilmektedir. Laktik asit bakterilerinin birçoğu mide ortamında düşük pH değerlerine bağlı olarak canlılıklarını yitirmektedir (Shi vd. 2013a; Shi vd. 2013b). Gastrointestinal sistemden geçişleri süresince yoğurt bakterilerinin canlılıklarının araştırıldığı bazı çalışmalarda bu bakterilerin canlılıklarını koruyamadıkları belirlenmiştir. del Campo vd. (2005) tarafından genç ve sağlıklı 96 gönüllü birey üzerinde yapılan bir çalışmada, diyetlerinde herhangi bir kısıtlama yapılmayan bireylerin iki hafta süresince her gün 2.0×10^8 hücre/g *S. thermophilus* ve 1.3×10^7 hücre/g *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* içeren 375 g yoğurt tüketmeleri sağlanmıştır. Çalışmaya katılan bireylerin dışkı örneklerinde *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları spesifik PCR ve DNA hibridizasyon yöntemleriyle belirlenmiştir. Yoğurt tüketiminden sonra bireylerden alınan günlük dışkı örneklerinde yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde, 96 bireyden sadece 10'unda (%10.52) yoğurt bakterileri ile uyumlu DNA varlığı tespit edilmiştir (Vodnar vd. 2010). Çomak Göçer (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, yoğurt üretiminde kullanılan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemde canlılığı araştırılmıştır. Çalışmada depolamanın 1., 15. ve 30. günlerinde yoğurt örneklerinin dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçişi sonrasında yoğurt bakterilerinin canlılık düzeylerine bakıldığında; başlangıçta sayısı ortalama 8.72 log kob/g olan *S. thermophilus*'un gastrointestinal modelden geçiş sonrasında tespit edilemediği, başlangıçta sayısı ortalama 7.43 log kob/g olan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un ise gastrointestinal modelden geçiş sonrasında sayısının 2.92-3.70 log kob/g arasında değiştiği belirtilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmaların canlılığı gastrointestinal sistemden geçiş sırasında karşılaştıkları çeşitli stres faktörlerine ek olarak gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında da önemli derecede azalabilmektedir. Bu sebeple probiyotik mikroorganizmaların canlılığını korumak oldukça önemli bir konu olarak ortaya çıkmaktadır (Heidebach vd. 2012). Raf ömrü sonuna kadar ürünlerde yeterli sayıda probiyotik mikroorganizma bulunabilmesi ve ürünlerin tüketimi sonucunda söz konusu mikroorganizmaların insan gastrointestinal sisteminin olumsuz koşullarına karşı korunması için farklı yöntemler geliştirilmiş olsa da, bunlar arasında en verimli sonuçlar kapsülasyon yöntemi ile sağlanabilmektedir (Sultana vd. 2000; Chan ve Zhang 2002; Ding ve Shah 2009; Burgain vd. 2011; Gökmen vd. 2012; Afzaal vd. 2019). Probiyotik mikroorganizmaların yanı sıra karşılaştıkları olumsuz çevre koşulları sebebiyle canlılıklarını koruyamayan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin de gastrointestinal sistemde canlılığının ve işlevselliğinin devam edebilmesi için kapsülasyon teknolojisinin kullanılabileceği bildirilmiştir (de Prisco vd. 2017).

2.4. Kapsülasyon Teknolojisi

Gıda endüstrisinde çok çeşitli uygulamalarda kullanılabilen kapsülasyon teknolojisi ile yoğurt gibi yüksek asitli gıdalarda probiyotik mikroorganizmaların canlılığının korunması ve probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sistemin olumsuz koşullarından etkilenmeden veya en az düzeyde etkilenerek insan bağırsağına ulaşması amaçlanmaktadır. Kapsülasyon teknolojisi, bir veya birkaç biyoaktif materyalin başka bir materyalle kaplandığı veya içerisine hapsedildiği bir işlem olarak tanımlanabilmektedir (Iyer ve Kailasapathy 2005; Favaro-Trindade 2015; Peredo vd. 2016). Kaplanan biyoaktif materyalin stabilitesi sağlanarak kontrollü salınımı gerçekleştirilebilmekte, gıdaların tat, renk ve kokuları maskenebilmekte, raf ömrü uzatılabilmekte ve gıdalar besin kaybına karşı korunabilmektedir (Huq vd. 2013; Singh vd. 2017). Kapsülasyon teknolojisi ile nanometre (nanoenkapsülasyon), mikrometre (mikroenkapsülasyon) ve milimetre ölçeklerinde kapsüller elde edilebilmektedir (Serna-Cock ve Vallejo-Castillo 2013). Kapsülasyon teknolojisi ile gerçekleştirilen biyoaktif materyallerin kaplanarak asitlik, oksijen ve gastrointestinal sistem koşulları gibi çeşitli çevresel stres koşullarından korunması sağlanabilmektedir (Huq vd. 2013; Özyurt ve Ötles 2014). Özellikle süt ürünlerinde kapsülasyon uygulamasının gerçekleştirilmesiyle düşük mide pH'sında probiyotik mikroorganizmaların canlılığının korunmasının sağlanabileceği ortaya koyulmuştur (Weinbreck vd. 2010).

Probiyotik mikroorganizmaların kapsülasyonu, pek çok farklı faktöre bağlı olan sistemler bütünüdür. Kapsülleme yöntemi, taşıyıcı materyaller, sıcaklık, nem içeriği, su aktivitesi, basınç, oksijen ve pH gibi çevresel koşullar ve kapsüllenen mikroorganizma suşu kapsülasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır (Şipailienė ve Petraityt 2018). Kapsülasyon teknolojisi ile elde edilen kapsüllerin genel olarak stabilitelerinin yüksek, geçirgenliklerinin uygun, boyutlarının istenen düzeyde ve ortamla uyumlu olması beklenmektedir (Çomak Göçer vd. 2013). Söz konusu şartların sağlanabilmesi için farklı kaplama materyalleri ve kapsülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Kapsülasyonda kullanılacak kaplama materyalleri toksik olmamalı, GRAS listesinde olmalı, uygun çözünürlüğü ile aktif materyalin arzu edilen ortama istenilen düzeyde salınmasına izin vermeli, kapsüllenen faydalı bileşenleri olumsuz çevre şartlarına karşı en üst düzeyde korumalı ve ucuz olmalıdır. Bütün bu özellikleri taşıyan tek kaplama materyali olmadığı için, bir kaplama materyali diğer kaplama materyalleri ile birlikte kullanılabilmektedir (Silva vd. 2013). Probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sistem boyunca canlılıklarını korumalarını sağlamak amacıyla gıda bazlı polimerler olan aljinat, kitosan, karboksimetil selüloz, karragenan, jelatin, pektin, peyniraltı suyu proteini izolatu ve keçiyoynuzu zıncı gibi pek çok biyopolimer kapsülasyonda taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Kullanılan her bir materyalin kapsül formülasyonu üzerinde farklı etkisi bulunmaktadır (Huq vd. 2013; Ul vd. 2013). Kullanılan çeşitli biyopolimerler ile birlikte probiyotik mikroorganizmalar sprey kurutma, ekstrüzyon, emülsiyon, koaservasyon, sprey soğutma, solvent ekstraksiyonu ve elektropüskürtme gibi farklı kapsülasyon teknikleri kullanılarak kapsüllenebilmektedir (Xie ve Wang 2007; Ariful vd. 2010; Vos vd. 2010; Huq vd. 2013; Chen vd. 2017; Haffner vd. 2017; Mizielínska ve Łopusiewicz 2018).

Peyniraltı suyu bazlı bileşenler, yüksek işlevsellikleri ve besleyici özellikleri sebebiyle orta çağlardan beri özellikle gıda sektöründe sıklıkla kullanılmaktadır (Ebringer vd. 2008; Kumar vd. 2018). Süt proteinleri özellikle de peyniraltı suyu

proteinleri düşük viskoziteli çözelti oluşturma, kolay çözünebilme ve film oluşturabilme gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda bileşenlerinin, ilaçların ve mikroorganizmaların kapsülasyonunda kullanılmaktadır (Heidebach vd. 2009, Lopez-Rubio vd. 2012, Tavares vd. 2014). Burgain vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada farklı süt proteinleri kullanılarak A (15 g %12.5 oranında kazein çözeltisi), B (13.5 g %12.5 oranında kazein çözeltisi + 1.5 g %12.5 oranında peyniraltı suyu proteini çözeltisi), C (13.5 g %12.5 oranında kazein çözeltisi + 1.5 g %12.5 oranında denatüre peyniraltı suyu proteini çözeltisi) ve D (13.5 g %12.5 oranında kazein çözeltisi + 1.0 g %12.5 oranında peyniraltı suyu proteini + 1.0 g %12.5 oranında denatüre peyniraltı suyu proteini çözeltisi) karışımları hazırlanmıştır. Farklı formülasyonlar kullanılarak elde edilen protein karışımlarına 11 log kob/g düzeyinde bakteri içerecek şekilde 0.03 g dondurarak kurutulmuş *Lactobacillus rhamnosus* GG eklenmiş ve karışımlar 445 µL rennet ile 9°C'de 30 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra karışımlar soğuk ayçiçek yağına (150 g) eklenerek emülsifikasyon tekniği ile kapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Mide ortamının simüle edilmesi amacıyla NaCl ve HCl ile pH değeri 2.5'e ayarlanmış ve pepsin enzimi eklenmiş sıvı kullanılmıştır. Simüle mide ortamında (pH 2.5) 37°C'de 2 saat bekletme sonunda sadece kazein çözeltisi ile üretilen kapsüllerle, peyniraltı suyu proteini ve denatüre peyniraltı suyu proteini içeren farklı formülasyonlar ile üretilen kapsüller karşılaştırıldığında; en yüksek bakteri canlılığının (%99) kazein ve denatüre peyniraltı suyu proteini çözeltisiyle hazırlanan kapsüllerde olduğu belirlenmiştir.

İnülin, fruktoz birimlerinin birbirine bağlanmasıyla oluşan bir depo polisakkariti olup prebiyotiktir. İnülin, probiyotik mikroorganizmalar tarafından alt birimlerine parçalanabilmekte ve besin olarak kullanılabilir. Ayrıca inülin, insan vücudunda gastrointestinal sistem koşullarının iyileştirilmesine ve kapsül içerisindeki bileşenlerin gastrointestinal sistemde kontrollü salınımına katkı sağlamaktadır. Bu fonksiyonel özelliklerinden dolayı inülin, gıda ve ilaç sektörlerinde kullanılan önemli bir doğal bileşendir (Dobre vd. 2008; Costa vd. 2013; Zaeim vd. 2020). Elektropüskürtme işleminde inülin yaygın olarak kullanılmakla beraber, işlemin inülinin biyoaktivitesi üzerine etki etmediği yapılan çalışma ile desteklenmiştir (Xie ve Wang 2007). Caces ve Frutos (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı inülin oranları (%0, 1 ve 2) ve kapsülasyon teknikleri (ekstrüzyon ve emülsiyon) kullanılarak kapsüllenen *Lactobacillus plantarum*'un -4°C'de 30 gün süresince canlılığı incelenmiştir. Ekstrüzyon metodu kullanılarak yapılan kapsülasyonda, sodyum aljinat (%2), MRS sıvı besiyeri (%5.5), gliserol (%5), ksantan gam (%0.15) ve farklı oranlarda inülin kullanılarak çözeltiler hazırlanmıştır. Ardından 25°C'ye soğutulan çözeltilere 1:10 (mikrobiyal kültür:aljinat çözeltisi) oranında olacak şekilde *L. plantarum* (10^8 kob/mL) ilave edilmiştir. Elde edilen çözelti, ekstrüzyon metoduna göre 0.05 M $CaCl_2$ çözeltisi içerisine püskürtülerek kapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Emülsiyon metodunda, hazırlanan çözeltilere 1:10 oranında *L. plantarum* ilave edilmiş ve iyonik jelleşme, kaplama çözeltisine asetik asit eklenmesiyle sağlanmıştır. Depolama süresinin başında yaklaşık 7.28 log kob/mL olan *L. plantarum* sayısında, kapsülasyon metodu ve inülin kullanılmasından bağımsız olarak depolamanın ilk on beş gününde önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Her iki kapsülasyon tekniğinde de depolamanın son on beş gününde inülin içermeyen örneklerde (≥ 5 log kob/g) *L. plantarum* sayısının inülin içeren örneklerde (≥ 6 log kob/g) göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Otuz günlük depolama sonunda gözlemlenen en yüksek canlılık ekstrüzyon tekniğinde 6.66 log

kob/g, emülsiyon tekniğinde ise 6.61 log kob/g olmak üzere %2 oranında inülin içeren örneklerde belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, kaplama çözeltisine eklenen inülinin depolamanın ilk on beş gününde *L. plantarum* tarafından karbon kaynağı olarak kullanıldığı değerlendirilmiştir.

Fayed vd. (2019) yaptıkları çalışmada, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* ve *Bifidobacterium lactis* içeren liyofilize hücre kültürü ile çift emülsiyon ve ekstrüzyon yöntemlerini kullanarak farklı formülasyonlarda kapsüller üretmişler ve bu kapsüllerin de kullanıldığı yoğurt üretimleri gerçekleştirmişlerdir. İnülin ve poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) içeren çift emülsiyon yönteminde inülin (%1) ve PLGA (%5) karıştırılmış ve birinci emülsiyon oluşturulmuştur. Ardından 10 mL polivinil alkol (PVA) eklenerek su banyosunda stabilize edilmiştir. Elde edilen emülsiyon 1200 rpm'de 30 dakika boyunca su banyosunda karıştırılmıştır. Santrifüj işlemi (14.000 rpm ve 4°C'de 25 dakika) ile partiküllerin ayrılması sağlanmış ve elde edilen tortu soğutulmuş su ile 2 kez yıkanarak -20°C'de saklanmıştır. Emülsiyon uygulaması sonrasında ekstrüzyon yöntemi kullanarak üç farklı formülasyonda kapsüller oluşturulmuştur. Birinci formülasyonda (A) hücre süspansiyonu (25 g) 100 mL taşıyıcı sodyum aljinat çözeltisi (%3 w/v) ile karıştırılmış ve CaCl₂ (%10 w/v) içerisine damlatılarak kapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İkinci formülasyonda (B), inülin (%1) PLGA içeren nanopartiküller hücre süspansiyonu (25 g) ve 100 mL taşıyıcı sodyum aljinat içeren çözelti ile manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve CaCl₂ (%10 w/v) içerisine damlatılarak kapsülasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen kapsüllerin bir kısmı son formülasyonda (C) ikinci katmanı oluşturmak amacıyla %0.6 (w/v) arabik gam çözeltisine aktarılmış ve kapsüller elde edilmiştir. Bu ekstrüzyon uygulamaları sonucunda üç farklı formülasyonda kapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Buffalo sütüne 90°C'de 10 dakika ısıtma işlemi uygulanıp 42°C'ye soğutulduktan sonra yoğurt starter kültürü (%2) aşılanmıştır. Yoğurt starter kültürü aşılanmış sültere üretilen kapsüller (%1) eklenmiştir. Kontrol grubunu oluşturmak üzere yoğurt starter kültürü aşılanmış sültere ayrıca *B. bifidum*, *B. animalis* ve *B. lactis* içeren liyofilize hücre kültürü (%1) aşılanmış ve aşılanan bu sülter 42°C'de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Üretilen yoğurt örnekleri 30 gün boyunca 4°C'de depolanmıştır. Kontrol grubu yoğurt örneğinde ve üç farklı kapsülasyon uygulaması sonucu elde edilen kapsülleri içeren A, B ve C yoğurt örneklerinde bifidobakteri sayıları depolama süresinin başlangıcında sırasıyla 7.43, 7.81, 7.91 ve 7.83 log kob/g olarak belirlenirken, 30 gün depolama süresinin sonunda ise sırasıyla 6.73, 7.64, 8.88 ve 8.92 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Arabik gam; düşük viskozitesi ile yüksek çözünürlüğe sahip, ağırlıkça yaklaşık olarak %2.2 polipeptit ve protein içermekle birlikte, kapsül verimliliğini artıran, emülsifiye edici özelliği bulunan, stabiliteye katkı sağlayan, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri tarafından fermente edilebilme yeteneğine sahip ve söz konusu özellikleriyle kapsülasyon uygulamalarında sıklıkla tercih edilen Arabinogalaktan tipi taşıyıcı bir bileşendir. Arabik gam, yüksek çözünürlüğü sayesinde hem çekirdek malzemenin daha iyi korunmasını hem de daha yüksek kurutma verimliliği sağlamaktadır (Kanakdande vd. 2007; Sarkar vd. 2013; Serna-Cock ve Vallejo-Castillo 2013, Zaeim vd. 2018).

Kapsülasyon teknolojisi, yoğurt bakterilerini de olumsuz koşullara karşı korumak için kullanılabilir. Yan Chen vd. (2017)'nin emülsiyon yöntemiyle kapsül ürettikleri bir çalışmada; 3 mL *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* süspansiyonu

(2×10^{10} kob/mL), 36 mL %10 (w/v) oranında hazırlanan ve 80°C’de 30 dakika süresince ısıtılma işlemi tabii tutulan peyniraltı suyu proteini çözeltisine eklenmiştir. Daha sonra transglutaminaz (10 U (Ünite)/g protein kuvvetinde) karışıma ilave edilerek, 200 g soya yağı içerisine aktarılmıştır. İşlem sonunda transglutaminaza bağlı jelleşme sağlanarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’un peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile kapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kapsüllerden 15 g, 100 mL %1.0 (w/v)’lik sodyum aljinat çözeltisine (pH 5.5) eklenmiş ve kapsüllerin sodyum aljinat ile kaplanmaları sağlanmıştır. Çalışmada pH değeri 2.0 ve sıcaklığı 37°C olan simüle mide sıvısında 2 saat boyunca tutulan kapsül formdaki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 8.00 log kob/g’dan 6.40 log kob/g’a, serbest formdaki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının ise aynı koşullarda 8.00 log kob/g’dan 1.19 log kob/g’a düştüğü saptanmıştır.

Bir diğer 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 kapsül üretimi gerçekleştirilmiştir. 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).

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin kapsülasyonu üzerine yapılan bir başka çalışmada, sodyum aljinat (%1.0, 1.5 ve 2.0, w/v) ve kitosan (%1.0, 1.5 ve 2.0, w/v) içeren çözeltilere toplam bakteri sayısı 10^9 kob/mL olacak şekilde *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* eklenmiştir. Farklı oranlarda sodyum aljinat ile hazırlanan çözeltiler CaCl_2 çözeltisi içerisine; farklı oranlarda kitosan ile hazırlanan çözeltiler ise NaTPP (Sodyum tripolifosfat) çözeltisine iğne uçlu bir şırınga kullanılarak damlatılmış ve 30 dakika sertleştirme işleminden sonra elde edilen kapsüller süzülerek ortamdan ayrılmıştır. Üretilen kapsüllerin morfolojisi değerlendirildiğinde, kapsül boyutunun çözelti konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Sodyum aljinatı %1.5 ve %2.0 oranlarında içeren çözeltilerle üretilen kapsüllerin büyüklüklerinin benzerlik gösterdiği, %1.0 oranında sodyum aljinat içeren çözeltiyle üretilen kapsüllerin ise daha küçük olduğu saptanmıştır. Sodyum aljinat içeren çözeltilerle üretilen kapsüllerin boyutlarıyla kitosan içeren çözeltilerle üretilen kapsüllerin boyutları karşılaştırıldığında ise kitosan içeren çözeltilerle üretilen kapsüllerin boyutlarının daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında yapılan FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi) analizlerinde; bakteri içermeyen ve sodyum aljinat çözeltileriyle üretilen kapsüllerde 975, 1033, 1095 ve 1199 cm^{-1} , bakteri içermeyen ve kitosan çözeltileriyle üretilen kapsüllerde ise 995, 1026, 1087 ve 1122 cm^{-1} olmak üzere dört farklı spesifik pik tanımlandığı belirlenmiştir. Bakteri içeren ve sodyum aljinat ile kitosan çözeltilerinden üretilen kapsüllerde ise bakterilerin hücre zarı lipid içeriğinden ve lipidlerin oluşturduğu ester bağlarından kaynaklanan 1750, 2852 ve 2926 cm^{-1} spesifik piklerinin tanımlandığı saptanmıştır. Başlangıçta toplamda ortalama 10^9 kob/mL düzeyinde bulunan serbest formdaki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarının pH değeri 1.5 ve sıcaklığı 37°C olan ortamda 2 saat bekletme sonunda yaklaşık 5 log birim azaldığı, farklı çözeltiler ile üretilen kapsüllerdeki *S. thermophilus* ile *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarındaki azalmanın ise aynı

şartlarda bekletme sonunda istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Çalışmada; desimal azalma sürelerinin, %2.0 sodyum aljinat çözeltisi ile kapsüllenmiş bakteriler için 71.38 dakika, %2.0 kitosan çözeltisi ile kapsüllenmiş bakteriler için 54.97 dakika, serbest formdaki bakteriler için ise 23.12 dakika olduğu belirlenmiştir. Benzer konsantrasyonlarda sodyum aljinat ile kapsüllenen yoğurt bakterilerinin kitosan ile kapsülenlere göre canlılıklarını daha iyi korudukları belirtilmiştir (Vodnar vd. 2010).

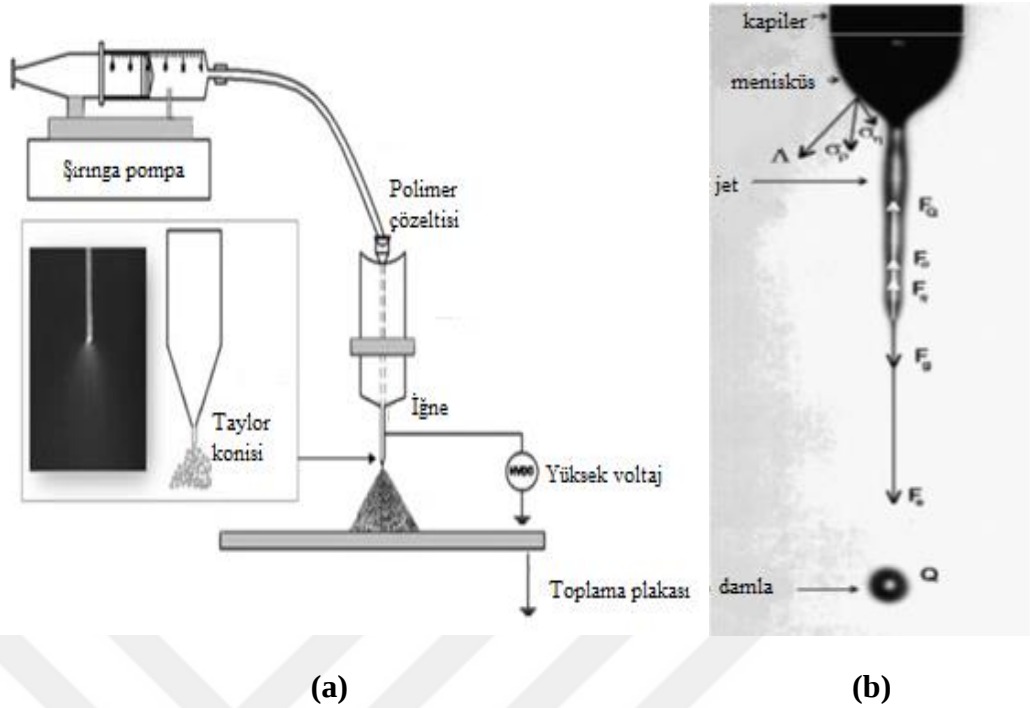
Shi vd. (2013a) yaptıkları çalışmada, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* içeren süspansiyonu pastörize süt ile karıştırmış ve karışımı 16 g/100 g CaCl₂ çözeltisi içerisine aktararak ekstrüzyon yöntemiyle kapsüller üretmişlerdir. Kapsüllerin elde edilmesinde 450 µm'lik nozul kullanılmıştır. Üretilen süt içerikli kapsüller karragenan (0.03 g/100 g) ve keçiyoynuzu gamı (0.25 g/100 g) çözeltileri içine eklenmiş ve 4°C'de 10 dakika bekletilerek kaplanmaları sağlandıktan sonra süzülerek ortamdan 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 37°C'de 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.

Mikroorganizmaların kapsülasyonu için kullanılan en yaygın teknikler ekstrüzyon, emülsiyon, püskürterek kurutma ve dondurarak kurutma olarak sayılabilmektedir. İlk iki teknik genellikle polimer çapraz bağlarla mikroorganizmaları kapsül içinde tutmakta ve kullanılan polimer çözeltileri gıdalarda kalıntı bırakabilmektedir. Püskürterek kurutma tekniğinde ise uygulama sırasında çıkan yüksek sıcaklık, dehidrasyon ve oksidatif stres mikroorganizmaların canlılığını olumsuz etkilemektedir. Dondurarak kurutma mikroorganizma canlılığı açısından en uygun yöntem olsa da uygulamanın kesikli ve diğer yöntemlere göre pahalı olması yaygın kullanımını engellemektedir (Laelorspoen vd. 2014). Son yıllarda probiyotik mikroorganizmaların ve biyoaktif gıda bileşenlerinin kapsülasyonunda kullanılan elektropüskürtme yönteminin diğer yöntemlere göre avantajları bulunmaktadır. Elektropüskürtme yöntemiyle kapsülasyon işlemi oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmekte, uygulama sırasında suda çözünebilir biyopolimerler kullanılarak organik çözeltilerin kullanımından kaçınılmakta, işlem değişkenleri ve çözelti özellikleri değiştirilerek mikrokapsüller veya nanokapsüller elde edilebilmektedir (Coghetto vd. 2016a).

2.4.1. Elektropüskürtme teknolojisi

Probiyotik içerikli ürünlerin yaygınlaşması ve mevcut metotların probiyotik mikroorganizmalar için kullanımının sınırlı olmasından dolayı bilim insanları kapsülasyonda kullanılmak üzere yeni teknolojilerin üzerinde çalışmaya başlamışlardır (Chen vd. 2017). Elektro hidrodinamik atomizasyon teknolojisi, gıda endüstrisinde kullanılan biyoaktif bileşenleri çevresel stres koşullarına karşı korumayı amaçlayan oldukça yeni bir teknolojidir. Kapsülasyon uygulamalarında yaygın olarak kullanılan püskürterek kurutma ve dondurarak kurutma uygulamalarının en büyük dezavantajı sıcaklık uygulamasıdır. Her iki yöntemde de maruz kalınan sıcaklık kapsüle edilen

mikroorganizmalar üzerinde canlılık kaybına sebep olabilmektedir. Elektro hidrodinamik atomizasyon uygulaması, karşılaşılan bu sorunları gidermek amacıyla geliştirilmiş yeni bir kapsülasyon tekniğidir. (Zeng vd. 2005; Gomez-Mascaraque vd. 2016; Librán vd. 2017; Salarbashi vd. 2020). Diğer kapsülasyon uygulamalarına alternatif olarak değerlendirilen elektro hidrodinamik atomizasyon teknolojisi, gıda endüstrisinde çeşitli fonksiyonel gıdaların üretilmesi açısından büyük bir potansiyel oluşturmaktadır (Librán vd. 2017). Elektro hidrodinamik atomizasyon teknolojisi ile yüksek voltaj altında partiküller (elektropüskürtme) veya elyaflar (elektroeğirme) oluşturulurken, yaygın olarak kullanılan diğer kapsülasyon yöntemlerinin aksine mikroorganizmalar üzerinde hasara yol açabilen ısı ve basınç uygulamaları ile agresif çözücülerin kullanılmaması, kullanımının basit olması, bakteriyel süspansiyonlar gibi yüksek viskoziteye sahip bileşenlerin kapsüle edilebilmesi, üretilen kapsüllerin küçük boyutlarda ve düzenli olması gibi avantajlara sahip bir teknik olmakla beraber, düşük kapsül yükleme verimliliğe sahip olması ise en büyük dezavantaj olarak kabul edilmektedir (Kamali vd. 2015; Parhizkar vd. 2016; Chen vd. 2017; Librán vd. 2017; Zaeim vd. 2017; Mehregan vd. 2018; Zaeim vd. 2019; Zhao ve Wang 2019). Elektropüskürtme, polimerik besleme çözeltisinin damlacıklar halinde toplayıcıya doğru elektriksel olarak atomize edildiği bir süreçtir. Toplayıcı, hem katı yüzey (kuru elektropüskürtme) hem de CaCl_2 gibi bir çözelti (ıslak elektropüskürtme) olabilmektedir. Şekil 2.1’de görüldüğü üzere bu teknikte besleme çözeltisi şırınga kullanılarak iğneden ekstrüde edilmektedir. Damlacığın meydana gelmesi sonrasında ise elektriksel itme kuvveti ve yüzey gerilimi arasında meydana gelen denge sebebiyle iğne ucunda 1964 yılında ilk olarak Taylor tarafından gözlemlenen ve sonrasında ise Taylor konisi ismi verilen konik bir şekil oluşmaktadır. Elektriksel itme kuvvetlerinin, yüzey gerilimi ve viskoelastik kuvvetlere karşı baskın geldiği noktada bir veya birkaç koniden ayrılan çok sayıda parçacık toplayıcıya doğru yönelmekte ve burada toplanmaya başlamaktadır (Wu ve Clark 2012; Zaeim vd. 2017; Brown-Bojorquez vd. 2018; Mehregan vd. 2018).



Şekil 2.1. (a) Elektropüskürtme uygulaması (Brushani ve Anandharamakrishnan 2014), **(b)** Elektropüskürtme yönteminde polimer jeti oluşumu (Jaworek ve Sobczyk 2008)

Elektropüskürtme işlemi; polimerik çözeltinin özellikleri, enstrümantal parametreler ve ortam faktörleri gibi pek çok değişenden etkilenmektedir. Elektropüskürtme çözeltisi karışık çözeltiler, emülsiyonlar ve katı parçacık dispersiyonlarını içerebilmektedir (Xie ve Wang 2007). Polimer çözeltisinin fiziksel özellikleri, oluşan parçacıkların ince ve homojen olmasında doğrudan etkilidir. Kullanılan çözeltinin elektropüskürtme yeteneği; viskozite, yüzey gerilimi, elektriksel iletkenlik ve dielektrik sabiti gibi çeşitli fiziksel özelliklerine bağlıdır (Zaeim vd. 2017; Mehregan vd. 2018). Formülasyonda kullanılan bileşenlerin bakteri canlılığını etkilememesi ve kapsüle edilen biyoaktif bileşenin özelliklerine etki etmemesi gerekmektedir. Proteinler ve polisakkaritler yüzey aktif doğal polimer olmaları sebebiyle gıda uygulamalarında sıklıkla tercih edilmektedir (Librán vd. 2017; Mehregan vd. 2018).

Yapılan bir çalışmada, %4.0'lük düşük metoksili sitrik pektin çözeltisi ile desteklenmiş %4.0'lük aljinat çözeltisi ve %3.0'lük aljinat çözeltisine 11.0 log kob/mL düzeyinde olacak şekilde *Lactobacillus plantarum* BL011 eklenmiştir. Hazırlanan karışımlar 2.0 mL/saat akış hızında, 24 kV voltaj altında ve 15 cm uzaklıktan elektropüskürtme cihazı ile 0.5 M CaCl_2 çözeltisi içine püskürtülerek kapsül oluşturulmuş ve kapsüller 4°C'de 21 gün süresince depolanmıştır. Mide sıvısını simüle etmek için 3.0 g/L pepsin ile %0.5 NaCl içeren ve pH değeri 2.0 olan 1.8 mL çözelti içine 0.4 mL serbest ve kapsüle formlarda *L. plantarum* BL011 eklenip 37°C'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. Simüle mide sıvısı içinde 120 dakika sonunda, aljinat çözeltisi ve düşük metoksili sitrik pektin içeren aljinat çözeltisi kullanılarak kapsüllenen *L. plantarum* BL011 sayısının sırasıyla yaklaşık 8.0 log kob/mL ve 7.0 log kob/mL olduğu belirlenirken, serbest formdaki *L. plantarum* BL011 sayısının yaklaşık 4.0 log kob/mL olduğu saptanmıştır. İnce bağırsak sıvısını simüle etmek için 1.0 g/L

safr tuzu ile %0.5 NaCl içeren ve pH değeri 8.0 olan 1.8 mL çözelti içine 0.4 mL serbest ve kapsüle formlarda *L. plantarum* BL011 konulup 37°C’de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. Simüle ince bağırsak sıvısı içinde 120 dakika sonunda serbest formdaki *L. plantarum* BL011 sayısının yaklaşık 5 log birim, aljinat çözeltisi ve düşük metoksili sitrik pektin içeren aljinat çözeltisi kullanılarak kapsüllenen *L. plantarum* BL011 sayısının ise sırasıyla yaklaşık 1 ve 1.5 log birim düzeylerinde azaldığı tespit edilmiştir. Depolamanın 21. gününde kaplama çözeltileri içinde bulunan serbest formdaki *L. plantarum* BL011’in tamamının inhibe olduğu, kapsüle *L. plantarum* BL011’nin sayısında ise istatistiksel olarak önemli bir azalmanın olmadığı belirlenmiştir (Coghetto vd. 2016b).

Moayyedi vd. (2018) yaptıkları çalışmada, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu çözeltisini, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu + %4 oranında inülin içeren çözeltiyi ve %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu + %4 oranında inülin + %1 oranında arabik gam içeren çözeltiyi kullanarak *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 bakterisini elektropüskürtme, dondurarak kurutma ve püskürterek kurutma yöntemleriyle kapsüllemişlerdir. İçerisine 100 mL *L. rhamnosus* ATCC 7469 süspansiyonu eklenen farklı çözeltiler plastik şırınga yardımıyla elektropüskürtme işlemine tabii tutulmuştur. İşlem 0.7 mL/saat sabit akış hızında, 14 kV voltaj altında ve 7 cm kollektör uzaklığında gerçekleştirilmiştir. Elektropüskürtme yöntemiyle üretilen kapsüllerin dondurarak kurutma ve püskürterek kurutma yöntemleriyle üretilen kapsüllere göre daha küresel olduğu saptanmıştır. Elektropüskürtme ile elde edilen kapsüller, 37°C’de simüle mide sıvısına (pH 2.0) 60 dakika ve 120 dakika boyunca maruz bırakılmış ve *L. rhamnosus* ATCC 7469 sayısının 60. ve 120. dakikalarda; %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu çözeltisi kullanılarak hazırlanan kapsüllerde yaklaşık olarak sırasıyla 7.00 log kob/g ve 5.90 log kob/g, %20 oranında peyniraltı proteini izolatu + %4 oranında inülin içeren çözelti kullanılarak hazırlanan kapsüllerde sırasıyla 7.90 log kob/g ve 6.80 log kob/g, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu + %4 oranında inülin + %1 oranında arabik gam içeren çözelti kullanılarak hazırlanan kapsüllerde ise sırasıyla 7.60 log kob/g ve 7.50 log kob/g olduğu belirlenmiştir. Kapsüllerdeki bakterilerin simüle ince bağırsak sıvısındaki sayısının ise 60. ve 120. dakikalarda; %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu çözeltisi kullanıldığında yaklaşık olarak sırasıyla 8.10 log kob/g ve 7.90 log kob/g, %20 oranında peyniraltı proteini izolatu + %4 oranında inülin içeren çözelti kullanıldığında sırasıyla 7.80 log kob/g ve 7.90 log kob/g, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatu + %4 oranında inülin + %1 oranında arabik gam içeren çözelti kullanıldığında ise sırasıyla 8.10 log kob/g ve 8.20 log kob/g düzeylerinde olduğu belirlenmiştir. Çalışmadaki taşıyıcı materyal karışımlarının *L. rhamnosus* ATCC 7469 canlılığını farklı düzeylerde koruduğu ortaya koyulmuştur.

Gıda bileşenlerinin kapsüle edilmesinde kaplama materyallerinin karışım oranlarının ve kullanılan kapsülasyon cihazındaki işlem değişkenlerinin, kapsüllerin düşük pH’ya karşı dayanıklılığına, kapsül yükleme verimliliğine ve kapsül boyutuna olan etkileri Yanıt Yüzey Metodu (YYM) optimizasyon tekniği kullanılarak tespit edilebilmektedir (Ergin 2019). Birçok bilim dalında kullanılan YYM, gıda endüstrisindeki süreçlerin optimizasyonunda da kullanılabilir. YYM, süreç değişkenleri ve ıktıları (yanıtlar) arasındaki ilişkiyi ortaya koymada istatistiksel ve matematiksel teknikleri bir arada kullanarak prosesin modellenmesi ve optimize

edilmesinde yararlanılan bir teknik olarak bilinmektedir. YYM, kullandığı tasarım yaklaşımları ile daha az sayıda deney yaparak çok sayıda değişkeni ve bu değişkenler arasındaki etkileşimleri değerlendirerek optimum koşulların belirlenmesini sağlamaktadır (Yoğurtçu 2018). Elektropüskürtme yönteminde ise kapsül oluşumu ve boyutu; voltaj, akış hızı ve iğne ile toplayıcı arasındaki uzaklık gibi işlem parametrelerinin optimizasyonu ile kontrol edilebilmektedir (Ege vd. 2017; Mehregan vd. 2018).

Amin Miri vd. (2016) yaptıkları çalışmada elektropüskürtme yöntemi ile yenilebilir zein liflerinin boyutlarını YYM kullanarak optimize etmişlerdir. Optimizasyon için zein konsantrasyonu %20-26 (w/v), uygulanan voltaj 10-30 kV, çözeltinin besleme akış hızı 4-12 mL/saat, nozul ve toplayıcı plaka arası uzaklık ise 10-20 cm arasında seçilmiştir. Çalışma sonucunda çözelti konsantrasyonu ve uygulanan voltaj arttıkça, ortalama lif çapının arttığı belirlenmiştir. Çözelti akış hızı ve nozul ile toplayıcı plaka arası uzaklığın ortalama lif çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiş olmakla birlikte, model optimizasyonuna göre minimum ortalama lif çapına, %24 (w/v) zein konsantrasyonu, 10 kV voltaj, 10 cm nozul ile toplayıcı plaka arası uzaklık ve 4 mL/saat akış hızı parametrelerinde ulaşıldığı saptanmıştır.

Elektropüskürtme koşullarının Yanıt Yüzey Metodunda Box-Behnken deneme deseni kullanılarak optimizasyonunun yapıldığı başka bir çalışmada ise probiyotik mikroorganizma kapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Durma evresine kadar (37°C’de 24 saat) geliştirilen *Lactobacillus plantarum* CECT 748 T bakterisi 9-10 log kob/mL düzeyinde olacak şekilde 0.3 g/mL konsantrasyonunda hazırlanan peyniraltı suyu konsantresi ile karıştırılıp, karışıma farklı oranlarda Fibersol (%10 ve 20) ve Tween 20 (%1, 5 ve 9) eklenmiştir. Farklı voltajlarda (10, 12 ve 14 kV), 0.15 mL/saat akış hızında elektropüskürtme yöntemiyle *L. plantarum* CECT 748 T içeren kapsüller üretilmiştir. *L. plantarum* CECT 748 T’nin canlılığı üzerine elektropüskürtme sırasında uygulanan voltajın ve kaplama çözeltisine eklenen Fibersol miktarının etkisi olmadığı saptanırken, kaplama çözeltisindeki Tween 20 miktarı arttıkça *L. plantarum* CECT 748 T’nin canlı kalma oranının arttığı tespit edilmiştir. Kapsüllenen *L. plantarum* CECT 748 T sayısının 37°C’de 2 saat süresince simüle mide sıvısına (pH 3.0) maruz kaldıktan sonra yaklaşık 2 log birim azaldığı saptanmıştır (Gomez-Mascaraque vd. 2016).

Elde edilen tüm bilgilerin ışığında bu çalışmada; yoğurt bakterileri olan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’un elektropüskürtme yöntemiyle optimum koşullarda kapsüle edildikten sonra yoğurt üretiminde kullanılması ile insan sağlığına daha faydalı olabilecek niteliklerde yoğurt üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Kapsülasyon işlemlerinde ve yoğurt üretimlerinde kullanılan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren yoğurt starter kültürü YO-FLEX M790®, Chr. Hansen Gıda San. ve Tic., A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den temin edilmiştir. Yoğurt üretimlerinde, yağsız süt tozundan (Ekso Süt ve Gıda Mam. San. ve Tic. A. Ş. Antalya, Türkiye) elde edilmiş olan rekonstitüye süt kullanılmıştır. Yoğurt bakterilerinin elektropüskürtme yöntemi ile kapsülasyonları ve yoğurt üretimleri Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ait laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Elektropüskürtme yöntemiyle *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin kapsülasyonu ve analizler

Kapsülasyon çalışmalarında ve yoğurt örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerde, *S. thermophilus* sayımında M17 agar besiyeri (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Ringer çözeltili ile seyreltilen örnekler dökme plak yöntemiyle ekilmiş ve petri kutuları aerobik koşullar altında 37°C'de 48 saat süresince inkübe edilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayımında ise asidifiye MRS agar (pH 5.4, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmış ve seyreltik örnekler dökme plak yöntemiyle petri kutularına ekilmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için mikroaerofilik koşullarda 48 saat süre ile 42°C'de inkübasyon gerçekleştirilmiştir (Halkman 2005).

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin kapsülasyonunun optimizasyonu Design Expert 10.0.1 Analiz Programı (Trial version, State-Ease Inc. Minneapolis, Amerika Birleşik Devletleri) ile yanıt yüzey metodunun Box-Behnken tasarımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme desenine (Çizelge 3.1) göre kaplama çözeltileri; ağırlıkça %16-24 peyniraltı suyu proteini izolatu + %0-8 inülin içerecek şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm kaplama çözeltilerine %1 (w/w) oranında arabik gam ve %2 (w/w) oranında Tween 80 (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Mikrobiyal faaliyetleri önlemek amacıyla kaplama çözeltilerine %0.02 (w/w) oranında sodyum azide (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda (WiseStir MSH-20A, Witeg Labortechnik GmGH, Wertheim, Almanya) 300 rpm'de, 30°C sıcaklıkta ve 20 dakika süreyle karıştırılmak suretiyle homojenizasyonu sağlanmış olan karışımlara %2 (w/w) oranında içerecek şekilde *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren yoğurt starter kültürü ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme deseni

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)
1	20/4	20	10
2	24/0	24	10
3	20/4	20	10
4	16/8	16	10
5	16/8	20	8
6	24/0	16	10
7	20/4	20	10
8	20/4	24	8
9	20/4	16	8
10	24/0	20	8
11	20/4	20	10
12	20/4	16	12
13	20/4	24	12
14	24/0	20	12
15	16/8	24	10
16	16/8	20	12
17	20/4	20	10

Elektropüskürtme işlemi, Şekil 3.1'de gösterilen elektropüskürtme cihazı (İNOVENSO, NE200, İstanbul, Türkiye) ile gerçekleştirilmiştir. Yoğurt starter kültürü içeren kaplama çözeltileri steril plastik şırınga içine alınarak paslanmaz çelik bir iğne içerisinden 3.0 mL/saat akış hızında toplayıcı plakaya pompalanmıştır. İğne, üzerinde dijital olarak kontrol edilen bir şırınga pompanın yer aldığı PTFE (Politetrafloroetilen) tel aracılığıyla şırıngaya bağlanmıştır. Farklı voltajlar (16-24 kV) uygulanarak üretilen kapsüller güç kaynağının toprak elektrotuna bağlı ve iğne ucuna farklı uzaklıklarda (8-12 cm) yerleştirilmiş paslanmaz çelik levhada toplanmıştır. Elde edilen kapsüllerin yükleme verimliliği ve kapsüllerin pH 2.5'deki davranışları incelenmiştir. Çizelge 3.1'de gösterilen Box- Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme deseni ile kapsül yükleme verimliliği en yüksek, düşük pH değerine sahip ortama karşı en dayanıklı ve bu iki özelliği bir arada bulunduran kapsüller elde edilmiş ve bu kapsüller yoğurt üretimlerinde kullanılmıştır.

3.2.1.1. Kaplama çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi

Kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenliği

Zaeim vd. (2018)'nin belirttikleri yöntem ile çoklu ölçüm cihazı (AZ, 86505, Taiwan, R.O.C) kullanılarak belirlenmiştir.

Kaplama çözeltilerin viskozite değerleri

Coghetto vd. (2016b)'nin kullandığı yöntem uygulanarak Brookfield DV II+ viskozimetresi (Model DV II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories Inc, Middleboro, MA, Amerika Birleşik Devletleri) ile saptanmıştır.

3.2.1.2. Üretilen kapsüllerin özelliklerinin belirlenmesi

Kapsül yükleme verimliliğinin belirlenmesi

Elektropüskürtme işleminden önce kaplama çözeltilerinden 100 mg alınarak ringer çözeltisi ile 10 kat seyreltme yapıp uygun dilüsyonlardan ekim yapılarak kaplama çözeltileri içindeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları belirlenmiştir. Kapsül içindeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarının tespiti için 100 mg kapsül 900 mL ringer içinde çözündürülmüş ve bu çözeltinin uygun dilüsyonlarından ekim yapılmıştır. Kapsüllerdeki toplam bakteri sayısının kaplama çözeltisi içerisindeki toplam bakteri sayısına bölünüp, 100 ile çarpılması ile kapsül yükleme verimliliği hesaplanmıştır (Picot ve Lacroix 2004).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan elektropüskürtme cihazı

pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerin davranışları

pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerin davranışları Dini vd. (2012)'in uyguladıkları yöntem modifiye edilerek incelenmiştir. Elektropüskürtme yöntemiyle elde edilen kapsüller 100 mg olacak miktarda tartılıp ve pH değeri 1.0 M HCl asit ile 2.5 ayarlanmış olan 900 mL NaCl çözeltisi (%0.2 w/v) içeren mikrosantrifüj tüpüne (2.0 mL) eklenmiştir. Kapsüller, önceden 37°C'ye ısıtılmış olan pH 2.5 değerindeki NaCl çözeltisi içinde 120 dakika süresince inkübe edilmiş ve inkübasyonun 0., 60. ve 120. dakikalarında örnek alınarak *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları belirlenmiştir.

Kapsüllerin yapısal karakterizasyonu

Elde edilen kapsüllerin kimyasal yapılarının karakterizasyonu Alehosseini vd. (2019)'nin uyguladığı yöntem ile Fourier Dönüştürümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) (PerkinElmer, Spectrum 400, Waltham, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak 400-4000 cm^{-1} aralığında gerçekleştirilmiştir. Kaydedilen her bir spektrum 4 cm^{-1} çözünürlükte ortalama 15-16 tarama sonrasında belirlenmiştir.

Kapsüllerin termal özellikleri

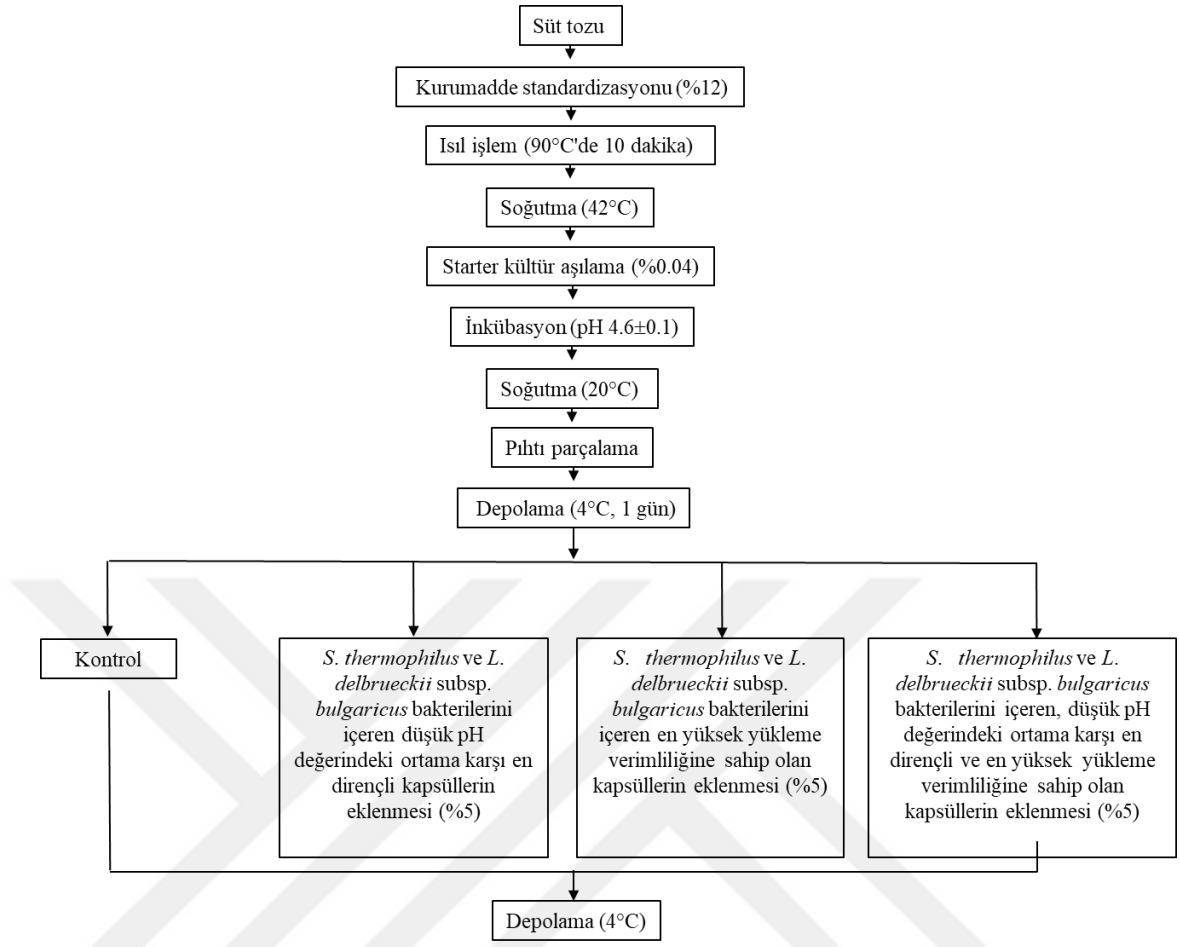
Kapsüllerin termal özellikleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) (PerkinElmer, DSC 6000, Waltham, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sıcaklık artış hızı dakikada 10°C olacak şekilde 20°C-350°C sıcaklık aralığında çalışılmıştır (Alehosseini vd. 2019).

Kapsüllerin görüntülenmesi ve boyut ölçümleri

Kapsüller Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile Gomez-Mascaraque vd. (2016)'nin uyguladığı yöntemle göre görüntülenmiş ve kapsüllerin çevre uzunluğu temelli gerçekleştirilen boyut ölçümlerinde Bs200Pro (BAB Yazılım, Donanım, Mühendislik, Medikal Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti., Ankara) yazılımı kullanılmıştır.

3.2.2. Yoğurt üretimleri ve analizler

Yoğurt üretimlerinde kullanılan rekonstitüe yağsız sütün kurumaddesi Şekil 3.2'de görüldüğü gibi %12 olacak şekilde standardize edilmiş ve toplamda 2 kg yoğurt üretilmiştir. Süt, 90°C'de 10 dakika ısıtma işlemi tabii tutulduktan sonra 42°C'ye soğutulmuştur. Soğutulan sütlere %0.04 (w/v) oranında yoğurt starter kültürü (Chr. Hansen Gıda San. ve Tic., A.Ş., YO-FLEX M790®, İstanbul, Türkiye) aşılanmıştır. Yoğurt starter kültürü ile aşılanan sütler 42°C'de inkübe edilmiş ve pH'sı 4.6'ya geldiğinde inkübasyona son verilmiştir. İnkübasyon sonunda örneklerin sıcaklığı 20°C'ye düşürülmüş ve her bir yoğurt örneğinin 30 saniye süreyle karıştırılarak pıhtısı parçalanmıştır. Pıhtısı parçalanan yoğurt örnekleri 4°C'de bir gün depolanmış ve sonrasında her bir yoğurt örneği 500 g olacak şekilde dört kısma ayrılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü kısım yoğurt örneklerine optimizasyon sonucunda sırasıyla; *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli, en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan ve bu iki özelliği birlikte bulunduran kapsüller %5 oranında ilave edilmiştir. Deneme deseni kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda *S. thermophilus* kapsüllerinde kapsül yükleme verimliliği ve düşük pH değerindeki ortama karşı direnç değerleri arasında önemli bir farklılık belirlenememesi ve söz konusu değerlerin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerine göre daha yüksek olmasından kapsül yükleme verimliliği ve düşük pH değerindeki ortama karşı direnci en yüksek olan kapsüllerin üretilmesinde kullanılan optimum noktalar kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* canlılığı üzerinden belirlenmiştir. Kapsül ilavesi yapılan her bir yoğurt örneği 30 saniye süresince karıştırılmıştır. Kapsül eklenmemiş dördüncü grup yoğurt örneği ise çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. Tüm yoğurt örnekleri 4°C'de 30 gün süresiyle depolanmıştır.



Şekil 3.2. Yoğurt üretimi

3.2.2.1. Yoğurt üretimlerinde kullanılan rekonstitüye sütte yapılan analizler

Kurumadde tayini

Yoğurt üretimlerinde kullanılan rekonstitüye sütte TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda belirtilen gravimetrik yöntemle göre kurumadde tayini yapılmıştır (Anonim 2002).

Yağ tayini

Üretimlerde kullanılan rekonstitüye sütün yağ oranı süt bütirometresi kullanılarak Gerber yöntemiyle tespit edilmiştir (Anonim 1995).

Azot tayini

Sütün azot miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiş ve elde edilen değer 6.38 faktörüyle çarpılarak protein miktarı bulunmuştur (Kurt vd. 1993).

pH değeri tayini

Sütün pH değeri Thermo Scientific Orion 2 star (Thermo Scientific, Ayer Rajah Crescent, Singapur) dijital pH metre kullanılarak, Kurt vd. (1993) tarafından belirlenen yöntemle göre belirlenmiştir.

Titrasyon asitliği değeri tayini

Titrasyon asitliği değerinin analizi TS 1018 Çiğ Süt Standardı'nda belirtilen Soxhlet-Henkel yöntemi ile yapılmış olup sonuçlar % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Anonim 2002).

Kül tayini

Sütün kül içeriği gravimetrik yöntem kullanılarak saptanmıştır (Kurt vd. 1993).

3.2.2.2. Yoğurt örneklerinin bileşim analizleri

Kontrol grubu ve kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde bileşim analizleri, 4°C'de 2 gün depolama sonrasında gerçekleştirilmiştir.

Kurumaddde tayini

Yoğurt örneklerinin kurumaddde tayini Metin (2008) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. ***Protein tayini***

Yoğurt örneklerinin protein miktarları, Kjeldahl yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Anonymous 1986).

Yağ tayini

Yoğurt örneklerinin yağ tayini Metin (2008) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. ***Kül tayini***

Yoğurt örneklerinin kül miktarları gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Kurt vd. 1993).

3.2.2.3. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca gerçekleştirilen analizler***pH değeri tayini***

Tüm yoğurt örneklerinin pH değerleri Thermo Scientific Orion 2 Star marka pH metre kullanılarak, Kurt vd. (1993) tarafından belirlenen yöntemle göre depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde tespit edilmiştir.

Titrasyon asitliği değeri tayini

Titrasyon asitliği değeri (%) IDF (International Dairy Federation-Uluslararası Sütçülük Federasyonu)'nin bildirdiği referans metot (Anonymous 1991) ile depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde tespit edilmiştir.

Viskozite değeri tayini

Örneklerin viskozite değerleri Brookfield DV II+ viskozimetre (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, Amerika Birleşik Devletleri) ile Shihata ve Shah (2002)'nin belirttiği yöntemle göre belirlenmiştir. Yoğurt örneklerinin viskozite değerleri depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde tespit edilmiştir.

Sertlik değeri tayini

Yoğurt örneklerinin sertlik değerleri; TA-XT2 tekstür analiz cihazı (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Birleşik Krallık) kullanılarak depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde Haque vd. (2001) tarafından uygulanan yöntem ile tespit edilmiştir.

Serum ayrılması değeri tayini

Örneklerin serum ayrılması değerleri Amatayatkul vd. (2006)'nin belirttikleri yöntemle göre depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde tespit edilmiştir.

Duyusal analizler

Yoğurt örneklerinin duyu analizi Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü elemanlarından oluşturulan 11 kişilik panelist grubu tarafından Bodyfelt vd. (1988)'e göre depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4. Dinamik *in vitro* gastrointestinal modelin oluşturulması

Çalışmada, optimizasyon cevabına göre seçilen işlem değişkenleri kullanılarak elde edilen kapsüle *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren ve içermeyen yoğurt örnekleri depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde Çomak Göçer (2016)'in uyguladığı yöntem kullanılarak geliştirilen ve tekli biyoreaktörden oluşan dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemden (Şekil 3.3) geçirilmiş ve geçiş sırasında örneklerdeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları belirlenmiştir. Sindirim işlemi boyunca uygulanan sıcaklık değerleri ve süreleri ile kullanılan tükürük, mide ve ince bağırsak salgılarının ve tampon çözeltilerin bileşimi, konsantrasyonları, akış miktarları ve akış hızları Çomak Göçer (2016)'in çalışmasından yararlanılarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2). Ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerini temsilen bir adet sıcaklık kontrollü cam biyoreaktör (BF-115, New Brunswick Scientific Co. New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri; Fermac 320 Bioreactor, Elektrolab Biotech Ltd. Tewkesbury, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Tükürük sıvısını simüle etmek için müsin, α -amilaz enzimi ve %40'lık NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Biyoreaktöre 500 mL steril su ile karıştırılıp homojen hale getirilmiş 100 g örnek eklenmiştir. Ağız bölgesini temsilen biyoreaktördeki ortam pH'sı 6.9'a ayarlanmış ve pH'nın 2 dakika boyunca sabit kalması sağlanmıştır. Mide sıvısını simüle etmek için pepsin enzimi, müsin ve 1.0 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Ağız bölgesinde geçen 2 dakika sonrasında biyoreaktöre simüle mide sıvısı ilave edilmiş ve ortam pH'sının, 1 saat içerisinde kademeli olarak 2.5'e düşmesi ve sonrasında 1 saat boyunca pH 2.5'de sabit kalması sağlanmıştır. İnce bağırsak sıvısını simüle etmek için pankreatin enzimleri, safra ve 1.0 M NaHCO₃ çözeltisi kullanılmıştır. Mide bölgesinde geçen toplam 2 saat sonrasında biyoreaktöre simüle ince bağırsak sıvısı ilave edilmiş ve ortam pH'sının, 15-20 dakika içerisinde

kademeli olarak 6.5'e yükselmesi ve sindirim işlemi sonuna kadar pH 6.5'de sabit kalması sağlanmıştır. Örnek, dinamik gastrointestinal model sistemden geçerken 2 dakika süresince ağız bölgesindeki, 2 saat süresince mide bölgesindeki ve 2 saat süresince ince bağırsak bölgesindeki koşullara maruz kalmıştır. Yoğurt örneklerdeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarının belirlenmesi için, ağız bölgesinin çıkışı, mide bölgesinin 1. saat ve 2. saat sonrası, ince bağırsak bölgesinin 1. saat ve 2. saat sonrası olacak şekilde toplamda 5 kez ortamdan örnek alınmıştır.

Çizelge 3.2. Dinamik *in vitro* gastrointestinal modelde sindirim

Çiğneme	100 g yoğurt örneği oda sıcaklığında 500 g steril su ilave edildikten sonra cam baget ile 30 saniye süresince karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.
Simüle tükürük salgısı	2 g/L α -amilaz enzimi ve 1 g/L müsin steril su içerisinde çözündürülmüştür. Simüle tükürük salgısı 0.05 mL/g yoğurt örneği olacak şekilde 5 mL/dakika hızla pH değeri 6.9 olan ağız ortamına ilave edilmiştir.
Simüle mide salgısı	25 g/L pepsin ve 23 g/L müsin steril mide tampon çözeltisi* içinde çözündürülmüştür. Simüle mide salgısı 0.05 mL mide salgısı/g yoğurt örneği olacak şekilde, ağız ortamında sindirime uğrayan yoğurt örneğine 0.25 mL/dakika hızla ilave edilmiştir.
Simüle ince bağırsak salgısı	1 g/L pankreatin ve 12 g/L safra steril ince bağırsak tampon çözeltisi** içinde çözündürülmüştür. Simüle ince bağırsak salgısı, mide ortamında sindirime uğrayan yoğurt örneği içerisine 0.25 mL ince bağırsak salgısı/g yoğurt örneği olacak şekilde 3 mL/dakika hızla ilave edilmiştir.

*Mide tampon çözeltisi: 2.2 g/L KCl, 6.2 g/L NaCl, 1.2 g/L NaHCO₃, 0.22 g/L CaCl₂

**İnce bağırsak tampon çözeltisi: 5.0 g/L NaCl, 0.6 g/L KCl, 0.25 g/L CaCl₂



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem

3.2.2.5. İstatistiksel analizler

Araştırmada, analizler paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler varyans analizine tabii tutulmuş ve farklı bulunan sonuçlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır (Düzgüneş vd. 1987).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin elektropüskürtme yöntemiyle kapsülasyonunun optimizasyonu

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin elektropüskürtme yöntemi ile kapsülasyonunun optimizasyonunda kullanılan kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu protein izolatu ve inülin oranları, konu ile ilgili literatür bilgileri doğrultusunda yapılan ön denemeler ile belirlenmiştir. Buna göre kaplama çözeltisi, ağırlıkça %16-24 arasında peyniraltı suyu proteini izolatu + ağırlıkça %0-8 arasında inülin olmak üzere toplamda %24 oranında peyniraltı suyu protein izolatu ve inülin içerecek şekilde hazırlanmıştır. Elektropüskürtme yönteminde kaplama çözeltilerine uygulanan voltaj 16-24 kV arasında, iğne ucu ve plaka arası uzaklık ise 8-12 cm arasında değişmiştir. Bakterilerin kapsülasyonunun optimizasyonunda düşük pH değerine sahip ortama karşı en yüksek dirençli kapsüllerin, en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüllerin ve söz konusu bu iki özelliği birlikte bulunduran kapsüllerin üretimi hedeflenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme deseni

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)
1	20/4	20	10
2	24/0*	24	10
3	20/4	20	10
4	16/8	16	10
5	16/8	20	8
6	24/0	16	10
7	20/4	20	10
8	20/4	24	8
9	20/4	16	8
10	24/0	20	8
11	20/4	20	10
12	20/4	16	12
13	20/4	24	12
14	24/0	20	12
15	16/8	24	10
16	16/8	20	12
17	20/4	20	10

* Kaplama çözeltisinin inülin içermediğini ifade etmektedir.

Analizlerde elde edilen, pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarında en düşük azalma oranına sahip, kapsül yükleme verimliliği en yüksek ve söz konusu bu iki özelliği bir arada bulunduran cevapların her biri için belirlenen en uyumlu modelin regresyon eşitlikleri (a) cevap yüzey metodu ile oluşturulmuştur.

$$KDD/KV = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_4 AB + \beta_5 AC + \beta_6 BC + \beta_7 A^2 + \beta_8 B^2 + \beta_9 C^2 + h \dots (a)$$

Bu eşitlikte;

KDD: pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerinin dayanıklılık değerini (log kob/g), KV: Kapsül yükleme verimliliğini (%), A: Voltajı (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklığı (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranını, β_0 : Keşif değeri, $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5, \beta_6, \beta_7, \beta_8, \beta_9$: Bağımsız değişkenlerin katsayı değerlerini ve h: Hatayı ifade etmektedir.

Modellerin istatistiksel önem düzeyi %95 güven aralığında F-değeri ($P < 0.05$) ile ölçülmüş ve modelin değerlendirilmesinde model uyumsuzluğu, saf hata, varyasyon katsayısı (CV), tahmini hataların karelerinin toplamı (PRESS), regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı ($R^2_{düz}$), tahmini belirleme katsayısı (Pred- R^2) ve yeterli kesinlik parametreleri kullanılmıştır.

4.1.1. Kaplama çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi

Kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Elektriksel iletkenlik (μS)	Viskozite (cP)
1	20/4	20	10	11.22±0.50	17.16±1.10
2	24/0	24	10	11.86±0.50	14.03±2.17
3	20/4	20	10	11.06±0.03	16.83±1.10
4	16/8	16	10	10.37±0.04	24.55±0.26
5	16/8	20	8	10.62±0.18	21.63±1.41
6	24/0	16	10	12.30±0.50	15.27±0.00
7	20/4	20	10	11.35±0.30	18.68±1.10
8	20/4	24	8	11.20±0.28	17.32±1.05
9	20/4	16	8	10.94±0.50	20.48±0.31
10	24/0	20	8	11.92±0.11	16.07±0.00
11	20/4	20	10	11.28±0.21	17.43±1.10
12	20/4	16	12	11.07±0.00	17.12±0.30
13	20/4	24	12	11.55±0.04	19.93±3.11
14	24/0	20	12	11.78±0.18	18.10±0.10
15	16/8	24	10	10.70±0.25	20.84±4.08
16	16/8	20	12	10.46±0.02	22.03±2.03
17	20/4	20	10	11.20±0.50	16.81±1.10

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri oda sıcaklığında ölçülmüştür. En düşük elektriksel iletkenlik değeri 10.37 μ S olarak peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8 olan 4 no'lu denemede ki kaplama çözeltilerinde belirlenirken, en yüksek elektriksel iletkenlik değeri ise 12.30 μ S olarak peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 24/0 olan 6 no'lu denemede ki kaplama çözeltilerinde tespit edilmiştir.

Kaplama çözeltilerinde kullanılan peyniraltı suyu proteini ve inülin oranının elektriksel iletkenlik değerleri üzerine olan etkisi incelenmiştir (Çizelge 4.3). Kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranının $P < 0.0001$ düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranlarının etkisi

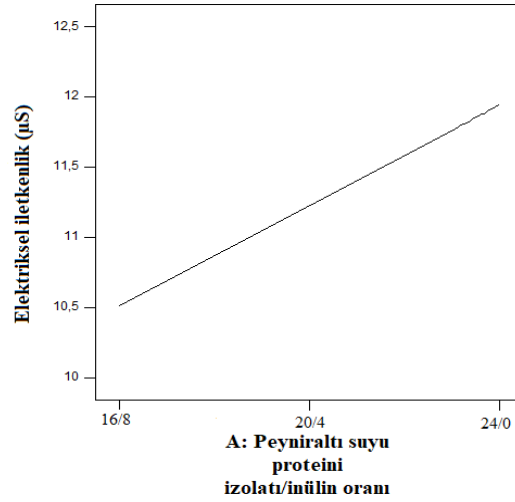
Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri
Model (Lineer)	1	4.08	< 0.0001*
C	1	4.08	< 0.0001*
Kalıntı	15	0.49	
Model uyumsuzluğu	1	8.004E-003	0.64
Saf hata	14	0.48	
Toplam	16	4.57	
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²
Lineer	0.89	0.88	0.86
		CV %	PRESS
		1.61	0.64
			Yeterli kesinlik
			23.02

* İstatistiksel olarak $P < 0.0001$ düzeyinde önemli. C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R² düz: Düzeltilmiş R²

Kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri için lineer regresyon analizi sonucunda elde edilen eşitlik, elektriksel iletkenlik = +11.23 + 0.71C olarak bulunmuştur. Şekil 4.1'de kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerlerinin, içerdiği peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.

En düşük viskozite değeri 14.03 cP ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 24/0 olan 2 no'lu denemede ki kaplama çözeltilerinde belirlenirken, en yüksek viskozite değeri 24.55 cP ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8 olan 4 no'lu denemede ki kaplama çözeltilerinde saptanmıştır.

Kaplama çözeltilerinde kullanılan peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranının viskozite değerleri üzerine olan etkisi incelenmiştir (Çizelge 4.4).



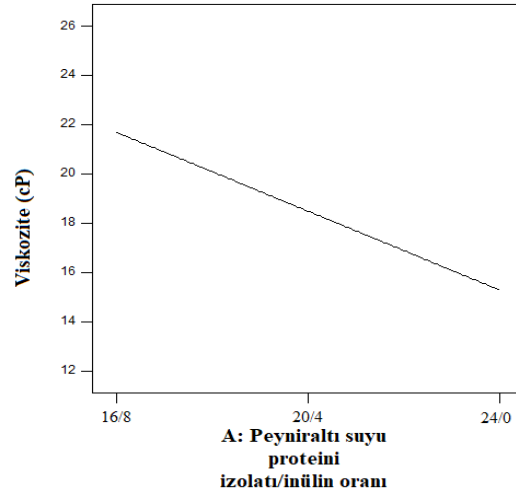
Şekil 4.1. Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının kaplama çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri üzerine etkisi

Çizelge 4.4. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin oranlarının etkisi

Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri			
Model (Lineer)	1	81.79	< 0.0001*			
C	1	81.79	< 0.0001			
Kalıntı	15	36.90				
Model uyumsuzluğu	1	5.05	0.16			
Saf hata	14	31.85				
Toplam	16	118.89				
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Lineer	0.69	0.67	0.59	8.48	48.78	11.89

* İstatistiksel olarak $P < 0.0001$ düzeyinde önemli. C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranını, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R² düz: Düzeltilmiş R²

Kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri için lineer regresyon analizi sonucunda elde edilen eşitlik, viskozite = +18.49 – 3.20C olarak bulunmuştur. Şekil 4.2’de görüldüğü üzere kaplama çözeltilerindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışıyla viskozite değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri üzerine etkisi

Elektropüskürtme teknolojisi çok sayıda materyal kullanılabilen çok yönlü bir kapsülasyon tekniği olmasından dolayı üretilen kapsüller, kullanılan kaplama çözeltisinin özelliklerinden büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu sebeple kaplama çözeltilerinin viskozite ve elektriksel iletkenlik gibi özelliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Kaplama çözeltisinde protein bazlı taşıyıcılar kullanıldığında yüksek elektriksel iletkenlik değerlerine ulaşıldığı Librán vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada ortaya konulmuştur. *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 4552'in fibersol (%20), maltodekstrin (%20), peyniraltı suyu proteini konsantratu (%20), zein (%12) ve PVP (Polivinilpropilen) (%10) kullanılarak elektropüskürtme yöntemi ile kapsüllendiği bir başka çalışmada peyniraltı suyu proteini ile hazırlanan kaplama çözeltisinin en yüksek elektriksel iletkenliği değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Peyniraltı suyu proteini konsantratu, maltodekstrin, fibersol, zein ve PVP taşıyıcıları kullanılarak elde edilen kaplama çözeltilerinin ortalama elektriksel iletkenlik değerleri sırasıyla 2200.00, 840.00, 40.00, 506.67, 50.00 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak tespit edilmiştir (Sahin vd. 2018).

Peyniraltı suyu proteini, inülin ve jelatin bazlı yenilebilir film taşıyıcılarla elde edilen *Lactobacillus casei* kapsüllerinin dokusal ve fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, inülin ilavesinin kaplama çözeltisinin viskozite değerini önemli ($P<0.05$) ölçüde arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. İnülinin diğer jelleştirici bileşenlerle olan etkileşiminin jel oluşturmada önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Viskozite değeri 10.5 cps olan %5 jelatin + %1 *Lb. casei* ile oluşturulan yenilenebilir film çözeltisine %4 oranında inülin ilavesi yapılmış ve inülin ilavesinden sonra yenilenebilir film çözeltisinin viskozite değeri 21.0 cps olarak belirlenmiştir (García-Argueta vd. 2013).

Çalışmamızda kaplama çözeltisine inülin ilavesinin jel oluşumunu artırdığı, kaplama çözeltisinin viskozitesinde artışa sebep olduğu belirlenmiş ve yukarıda bahsi geçen konu ile ilgili yapılan çalışmaların da söz konusu durumu destekler nitelikte olduğu görülmüştür.

4.1.2. Kapsüllerin yükleme verimlilikleri

4.1.2.1. *S. thermophilus* bakterisi için kapsüllerin yükleme verimlilikleri

Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre üretilen *S. thermophilus* kapsüllerinin verimlilik değerleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. Kapsül yükleme verimliliklerinin ortalama değer olarak %90.50 ile 99.80 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerindeki ve elde edilen kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı ve kapsüllerin yükleme verimlilik değerleri

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kaplama çözeltilerindeki <i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)	Kapsüldeki <i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)	Kapsül yükleme verimliliği (%)
1	20/4	20	10	9.50±0.24	9.00±0.28	94.74±3.07
2	24/0	24	10	9.47±0.13	8.78±0.06	92.48±1.94
3	20/4	20	10	9.53±0.24	9.15±0.28	95.47±3.07
4	16/8	16	10	9.22±0.21	9.13±0.48	98.96±0.83
5	16/8	20	8	10.06±0.00	9.82±0.01	97.57±0.15
6	24/0	16	10	8.71±0.11	7.82±0.71	90.50±9.49
7	20/4	20	10	9.27±0.24	9.04±0.28	97.50±3.07
8	20/4	24	8	9.42±0.01	9.28±0.48	98.55±0.38
9	20/4	16	8	8.82±0.07	9.02±0.09	98.02±2.03
10	24/0	20	8	9.47±0.01	8.84±0.31	93.37±0.05
11	20/4	20	10	8.91±0.24	8.66±0.28	90.58±3.07
12	20/4	16	12	9.62±0.17	8.98±0.55	93.35±5.05
13	20/4	24	12	10.27±0.48	9.83±0.11	95.66±3.99
14	24/0	20	12	9.57±0.01	8.85±0.01	92.45±0.05
15	16/8	24	10	9.07±0.08	8.93±0.00	98.60±0.81
16	16/8	20	12	8.96±0.01	8.96±0.06	99.76±0.48
17	20/4	20	10	9.55±0.24	9.53±0.28	99.80±3.07

Çizelge 4.6’da verilen ANOVA analiz sonuçlarına göre, kapsül yükleme verimlilik değerlerinin model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun hiçbir parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Ayrıca kapsül yükleme verimliliği üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu/ inülin oranının etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğin göstergesi olan sinyal gürültü oranı, kapsül yükleme verimliliği için 7.40 olarak belirlenmiş ve bu değer 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermiştir. Önerilen model denklemin R^2 ve $R^2_{düz}$ değerleri sırasıyla 0.58 ve 0.50 olarak tespit edilmiştir.

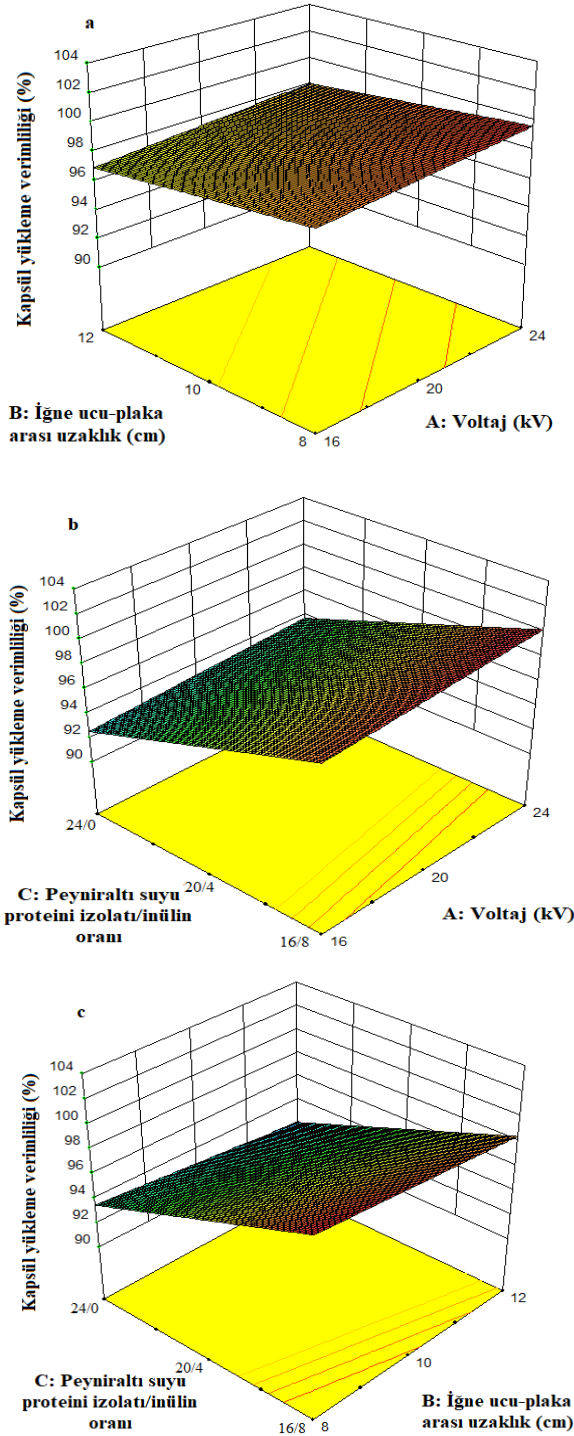
Çizelge 4.6. Kapsül yükleme verimliliği değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler

Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri
Model (lineer)	3	92.49	0.01*
A	1	2.49	0.50
B	1	4.95	0.34
C	1	85.05	0.00*
Kalıntı	13	66.16	
Model uyumsuzluğu	9	18.85	0.98
Saf hata	4	47.21	
Toplam	16	158.65	
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²
Liner	0.58	0.50	0.41
		CV %	PRESS
		2.36	92.90
		Yeterli kesinlik	7.40

* İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli

A: Voltaj (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R² düz: Düzeltilmiş R²

Kapsül yükleme verimliliği için istatistiksel olarak önemli varyasyon kaynakları kullanılarak $KV = +95.73 - 3.76C$ birinci dereceden polinomiyal model eşitliği elde edilmiştir. İşlem değişkenlerinin kapsül yükleme verimliliği değerleri üzerindeki etkilerinin gözlemlenebilmesi için elde edilen modeller kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri oluşturulmuştur. Bu grafiklerin oluşturulabilmesi için işlem değişkenlerinden herhangi biri deneysel tasarımın merkez noktasında sabit tutulmuş, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonları çıkarılmıştır. Şekil 4.3'de kapsül yükleme verimliliği değerleri üzerinde etkili ve etkisiz olan faktörlere ait yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri yer almaktadır. Kapsül üretimi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklığın ve kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışıyla kapsül yükleme verimliliğinin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3.c). Kapsülasyon işleminde uygulanan voltaj değerindeki artışın ise kapsül yükleme verimliliğini artırdığı belirlenmiştir (Şekil 4.3.a-b).



Şekil 4.3. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, **b:** Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, **c:** Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu

Kapsül yükleme verimliliği, kapsül içerisinde olumsuz çevre koşullarına karşı korunan aktif bileşen miktarının ölçütü olup, dolayısı ile biyoaktif bileşenlerin kapsülasyonunda önemli bir kalite parametresidir. Ayrıca kapsül yükleme verimliliği; polimerlerin hidrofilikliği, gözenekliliği, bağ yapıları ve çözeltide kullanılan bileşenler arası etkileşim gibi pek çok farklı faktöre bağlıdır (Cujic vd. 2016; Zabot vd. 2016). *Lactobacillus acidophilus* La-5 bakterisinin püskürterek kurutma tekniği ile kapsülasyonunda inülin, nişasta ve trehaloz bileşenlerinin koruyuculuklarının araştırıldığı bir çalışmada; %8 oranında inülin, nişasta, arabik gam ve trehaloz kullanılarak elde edilen kapsüllere ait yükleme verimliliklerinin sırasıyla ortalama %93.12, %94.26, %89.68 ve %90.34 olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda nişasta ve inülin kullanılarak üretilen kapsüllere ait yükleme verimlilik değerlerinin, trehaloz ve arabik gam kullanılarak üretilen kapsüllere ait yükleme verimlilik değerlerinden yüksek olduğu belirtilmiştir. Nişasta ve inülin kullanılarak üretilen kapsüllere ait yükleme verimlilik değerleri arasında ise istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) ortaya konulmuştur (Lorenzoni vd. 2018).

Bifidobacterium bifidum, *Bifidobacterium animalis* ve *Bifidobacterium lactis* bakterilerini içeren *Bifidobacterium* karışık kültürünün inülin ve PLGA kullanılarak iki aşamalı olmak üzere emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri ile kapsülasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada, yoğurda ilave edilen bakterilerin canlılığının artırılması amaçlanmıştır. Çalışmada inülin (%1) ve PLGA ilavesi (%5) kullanılarak hazırlanan kapsüllerin yükleme verimliliği %84 olarak bulunmuştur (Fayed vd. 2019).

Zabot vd. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada; kekik özütü, farklı oranlarda inülin (%0, 5, 10, 20) ve modifiye nişasta (%0, 5, 10, 20) içeren kaplama çözeltisi kullanılarak emülsiyon yöntemiyle kapsüllenmiştir. Çalışma kapsamında en düşük (%27) ve en yüksek (%76) kapsül yükleme verimliliği değerlerinin sırasıyla %20 oranında inülin ve %20 oranında modifiye nişasta içeren kaplama çözeltisi kullanılarak üretilen kapsüllere ait olduğu belirlenmiştir. Modifiye nişasta ve inülin oranları sırasıyla %15 ve %5 olan kaplama çözeltisinin kapsül yükleme verimliliği yaklaşık olarak %70, %10 oranlarında modifiye nişasta ve inülin içeren kaplama çözeltisinin kapsül yükleme verimliliği yaklaşık olarak %60, %5 modifiye nişasta ve %15 inülin içeren kaplama çözeltisinin kapsül yükleme verimliliği ise yaklaşık olarak %66 olarak saptanmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; kaplama çözeltisinde modifiye nişasta kullanılmasının kapsül yükleme verimliliğini arttırdığı sonucuna ulaşılmasına karşın, prebiyotik ilaveli fonksiyonel gıdalara yönelik artan tüketici talebi de düşünüldüğünde kaplama çözeltisine inülin ilavesi ile artan viskozite sonucunda aktif bileşenin kapsül içinde hapsedilmesinin sağlandığı ve modifiye nişasta ve inülin içeren kaplama çözeltileri kullanıldığında ulaşılan kapsül yükleme verimliliği değerlerinin kabul edilebilir seviyelerde olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen kaplama çözeltilerinin viskozite değerleri ile kapsül yükleme verimliliği değerleri değerlendirildiğinde, inülin ilavesinin kaplama çözeltisinin viskozitesini arttırdığı ve buna bağlı olarak da *S. thermophilus* bakterisinin kapsülasyonunda kapsül yükleme verimliliğinin arttığı sonucuna ulaşılmış ve söz konusu durumun konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olduğu belirlenmiştir.

4.1.2.2. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisi için kapsüllerin yükleme verimlilikleri

Farklı koşullar altında Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi'ne göre oluşturulan deneme planı izlenerek üretilen kapsüllerin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisi için kapsül yükleme verimliliği değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Kapsül yükleme verimlilik değerlerinin ortalama değer olarak %61.05 ile 89.03 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kaplama çözeltilerindeki ve elde edilen kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı ve kapsüllerin yükleme verimlilik değerleri

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kaplama çözeltilesindeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)	Kapsüldeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)	Kapsül yükleme verimliliği (%)
1	20/4	20	10	8.49±0.70	7.56±0.57	89.03±4.44
2	24/0	24	10	9.82±0.00	6.83±0.04	69.56±0.55
3	20/4	20	10	8.50±0.70	7.31±0.57	85.95±4.44
4	16/8	16	10	9.21±0.16	7.43±0.49	80.64±1.12
5	16/8	20	8	8.77±0.04	8.08±0.00	92.13±0.42
6	24/0	16	10	8.16±0.06	4.98±0.02	61.05±0.03
7	20/4	20	10	9.42±0.70	7.34±0.57	77.95±4.44
8	20/4	24	8	8.67±0.05	7.37±0.01	85.04±0.04
9	20/4	16	8	9.30±0.06	6.85±0.03	73.67±2.66
10	24/0	20	8	8.65±0.08	6.35±0.58	73.44±6.76
11	20/4	20	10	7.49±0.70	5.98±0.57	79.79±4.44
12	20/4	16	12	9.06±0.05	6.81±0.01	75.18±0.05
13	20/4	24	12	8.92±0.03	7.83±0.01	87.77±0.65
14	24/0	20	12	8.47±0.08	6.85±0.03	80.91±0.04
15	16/8	24	10	9.74±0.05	7.07±0.02	72.55±0.01
16	16/8	20	12	9.01±0.05	7.79±0.60	86.49±0.96
17	20/4	20	10	9.33±0.70	7.32±0.57	78.44±4.44

Çizelge 4.8'de verilen ANOVA analiz sonuçlarına göre, kapsül yükleme verimlilik değerlerinin model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun hiçbir parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde etkisini olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Ayrıca kapsül yükleme verimlilik değerleri üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğin göstergesi olan sinyal gürültü oranı, kapsül yükleme verimliliği için 8.94 olarak belirlenmiş ve bu değer 4'ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermiştir. Önerilen model denklemin R^2 ve $R^2_{düz}$ değerleri sırasıyla 0.83 ve 0.62 olarak tespit edilmiştir. Söz konusu değerlerin 1'e yakın olması, sonuç denklemlerinin deneysel verileri temsil etmede başarılı olduğu anlamını taşımaktadır.

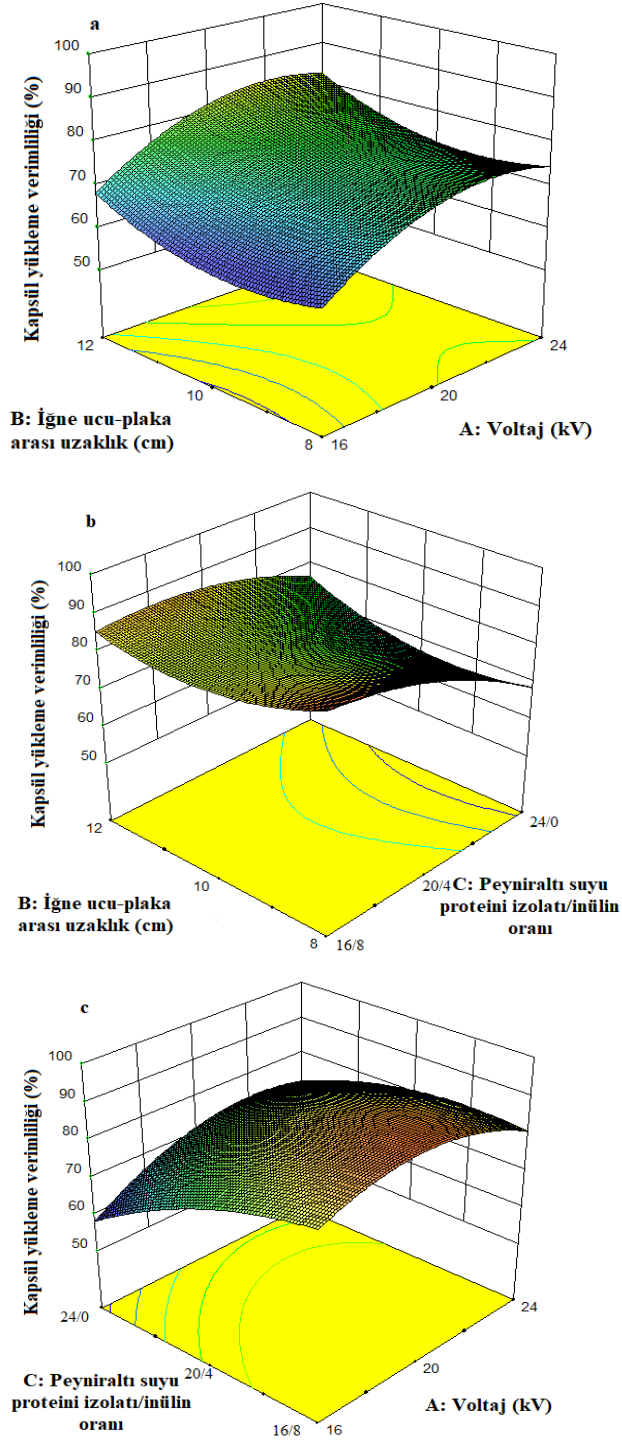
Çizelge 4.8. Kapsül yükleme verimlilik değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler

Varyasyon kaynakları	SD	HKT	<i>P</i> değeri			
Model (Kuadratik)	9	854.15	0.04*			
A	1	74.34	0.13			
B	1	4.59	0.68			
C	1	374.31	0.01*			
AB	1	0.37	0.90			
AC	1	68.81	0.13			
BC	1	43.92	0.33			
A ²	1	209.53	0.03*			
B ²	1	115.46	0.06			
C ²	1	75.22	0.12			
Kalıntı	7	169.22				
Model uyumsuzluğu	3	70.38	0.50			
Saf hata	4	98.83				
Toplam	16	1023.37				
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik	0.83	0.62	0.25	6.19	1280.57	8.94

* İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli

A: Voltaj (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R² düz Düzeltilmiş R²

Kapsül yükleme verimliliği için istatistiksel olarak önemli varyasyon kaynakları kullanılarak $KV = +82.23 - 5.86C - 7.05A^2$ ikinci dereceden polinomiyal model eşitliği elde edilmiştir. İşlem değişkenlerinin kapsül yükleme verimliliği değerleri üzerindeki etkilerinin gözlemlenebilmesi için elde edilen modeller kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri oluşturulmuştur. Bu grafiklerin oluşturulabilmesi için işlem değişkenlerinden herhangi biri deneysel tasarımın merkez noktasında sabit tutulmuş, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonları çıkarılmıştır. Şekil 4.4'de kapsül yükleme verimliliği üzerinde etkili ve etkisiz olan faktörlere ait yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri yer almaktadır. Kapsül üretimi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklığın 10 cm olduğu noktadaki kapsül yükleme verimliliğinin, söz konusu uzaklığın 8 ve 12 cm olduğu durumlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4.a). Kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artmasıyla kapsül yükleme verimliliğinin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4.b-c). Kapsülasyon sırasında uygulanan voltaj değerinin 20 kV olduğundaki kapsül yükleme verimliliğinin, 16 ve 24 kV olduğu durumlara göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.4.c).



Şekil 4.4. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, **b:** Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, **c:** Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu

Lactobacillus acidophilus bakterisinin çeşitli prebiyotik bileşenler (pirinç kepeği, inülin, nişasta) ile jelatinizasyon yöntemi kullanılarak kapsülasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada; %2 aljinat, %2 aljinat+%10 pirinç kepeği, %2 aljinat+%10 inülin ve %2 aljinat+%10 nişasta içeren çözeltiler ile üretilen kapsüllerin yükleme verimlilikleri sırasıyla %94.10, %94.87, %96.75 ve %76.17 olarak belirlenmiştir (Poletto vd. 2019).

Duman ve Karadağ (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, elektropüskürtme yöntemi ile gerçekleştirilen *Lactobacillus fermentum*'un kapsülasyonunda kaplama çözeltilisine inülin ilavesinin kapsül yükleme verimliliği üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Çalışmada kapsül yükleme verimlilik değeri PVA (%20) ve sodyum aljinat (%2) içeren kapsüllerde %77.59 iken, %5-15 oranlarında inülin içeren kapsüllerde yükleme verimlilik değerlerinin %74.26-80.63 arasında değiştiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda kaplama çözeltilisine inülin ilavesinin kapsül yükleme verimliliğini arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır.

Maleki vd. (2020) yaptıkları çalışmada, farklı bileşenlerin (peyniraltı suyu proteini izolatu, selüloz ve inülin) optimizasyonu sağlanarak dondurarak kurutma tekniğiyle *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 746 bakterisinin kapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen kapsüllerde yükleme verimlilik değerlerinin %82.79-90.17 arasında değiştiği belirlenmiştir. Peyniraltı suyu protein izolatu/inülin oranının 62.70/37.30 olduğu kaplama çözeltilisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin yükleme verimliliği değeri %85.14, sadece peyniraltı suyu protein izolatu içeren kaplama çözeltilisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin yükleme verimlilik değeri %84.44, peyniraltı suyu protein izolatu/selüloz oranının 85.0/15 olduğu kaplama çözeltilisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin yükleme verimlilik değeri ise %82.79 olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda kaplama çözeltilisindeki peyniraltı suyu protein izolatu artışının kapsül yükleme verimliliğini azalttığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda bulunan kapsül yükleme verimliliği değerleri, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerinin her ikisi için de kaplama çözeltilisindeki inülin miktarının artışı ile artış göstermiştir. Konu ile ilgili çalışmalara ait sonuçların genel olarak çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdiği, görülen bazı farklılıkların ise kapsülasyon yöntemi ve kapsülasyonda kullanılan bileşenlerin farklılıklarından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

4.1.3. Kapsüllerin pH değeri 2.5 olan ortamdaki davranışları

4.1.3.1. Düşük pH değerindeki ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı

Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre üretilen kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı, kapsüllerin pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılmadan önce ve 2 saat maruz bırakıldıktan sonra belirlenmiştir (Çizelge 4.9). pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının ortalama değer olarak 7.08 log kob/g ile 9.10 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı

Deneme no	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsüldeki <i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)	pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)
1	20/4	20	10	9.00±0.28	8.39±0.29
2	24/0	24	10	8.78±0.11	7.86±0.03
3	20/4	20	10	9.15±0.28	9.10±0.29
4	16/8	16	10	9.13±0.48	8.57±0.28
5	16/8	20	8	9.82±0.26	8.89±0.09
6	24/0	16	10	7.82±0.00	7.08±0.18
7	20/4	20	10	9.04±0.28	9.04±0.29
8	20/4	24	8	9.28±0.48	8.79±0.02
9	20/4	16	8	9.02±0.09	8.30±0.11
10	24/0	20	8	8.84±0.13	8.09±0.16
11	20/4	20	10	8.66±0.28	8.57±0.29
12	20/4	16	12	8.98±0.55	8.32±0.29
13	20/4	24	12	9.83±0.11	8.94±0.09
14	24/0	20	12	8.85±0.02	8.30±0.11
15	16/8	24	10	8.93±0.08	8.44±0.25
16	16/8	20	12	8.96±0.06	8.94±0.05
17	20/4	20	10	9.53±0.28	9.07±0.29

Çizelge 4.10’da verilen ANOVA analiz sonuçlarına göre pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının, model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun etkinin hiçbir parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca düşük pH değerindeki ortamda kapsüldeki *S. thermophilus* sayısı üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğin göstergesi olan sinyal gürültü oranı, pH değeri 2.5 olan ortama karşı dayanıklılık için 7.80 olarak belirlenmiş ve bu değer 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermiştir. Önerilen model denklemin R^2 ve $R^2_{düz}$ değerleri sırasıyla 0.84 ve 0.63 olarak tespit edilmiştir.

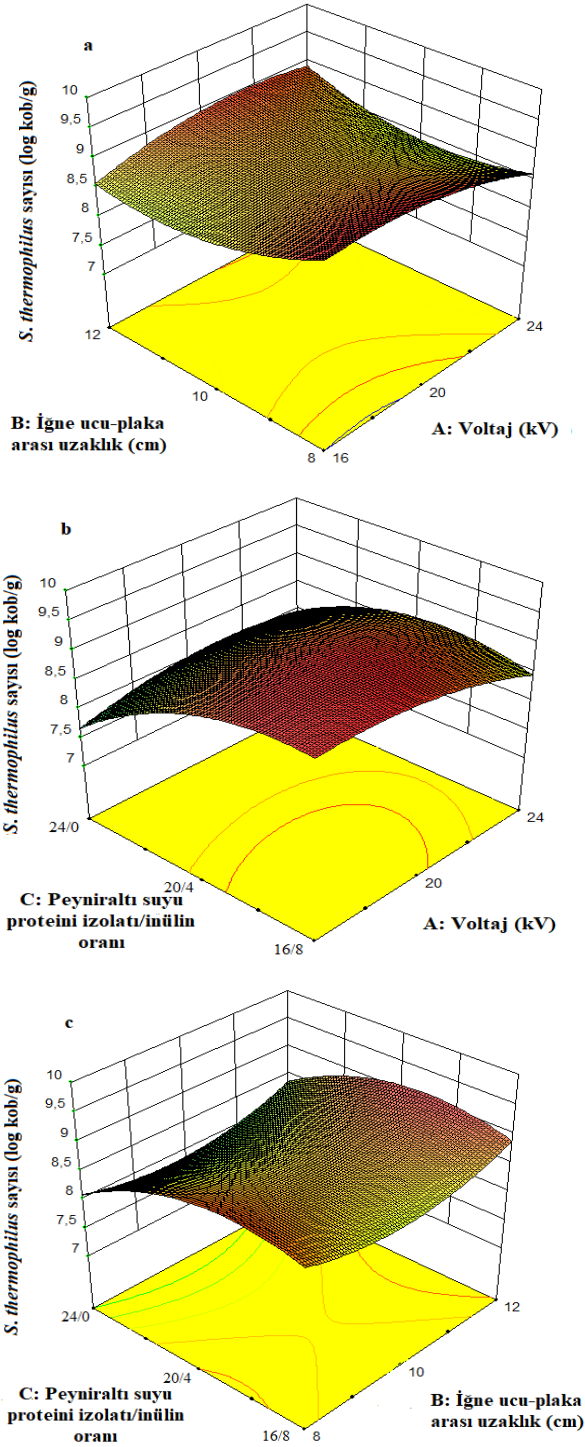
Çizelge 4.10. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler

Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri
Model (Kuadratik)	9	3.63	0.04*
A	1	0.12	0.30
B	1	0.014	0.71
C	1	1.54	0.00*
AB	1	0.30	0.20
AC	1	0.31	0.19
BC	1	524.81	0.80
A ²	1	0.23	0.17
B ²	1	0.47	0.07
C ²	1	0.89	0.02*
Kalıntı	7	0.70	
Model uyumsuzluğu	3	0.15	0.80
Saf hata	4	0.55	
Toplam	16	4.33	
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²
Kuadratik	0.84	0.63	0.23
	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
	3.72	3.32	7.80

* İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli.

A: Voltaj (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R²_{düz}: Düzeltilmiş R²

pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı için istatistiksel olarak önemli varyasyon kaynakları kullanılarak KDD = +8.68 –0.44C birinci dereceden polinomial model eşitliği elde edilmiştir. İşlem değişkenlerinin pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısı üzerindeki etkilerinin gözlemlenebilmesi için elde edilen modeller kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri oluşturulmuştur. Bu grafiklerin oluşturulabilmesi için işlem değişkenlerinden herhangi biri deneysel tasarımın merkez noktasında sabit tutulmuş, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonları çıkarılmıştır. Şekil 4.5’de kapsül yükleme verimliliği üzerinde etkili ve etkisiz olan faktörlere ait yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri yer almaktadır. Kapsül üretimi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklık değerlerinin 8 ve 12 cm olduğunda elde edilen kapsüller için pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının, söz konusu uzaklık değerinin 10 cm olduğunda elde edilen kapsüllere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5.a-c). Kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu oranının artmasına bağlı olarak pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus*’un canlılığının daha yüksek düzeyde korunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5.b-c). Kapsülasyon işlemi sırasında uygulanan voltaj değeri 20 kV olduğunda elde edilen kapsüller için pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının, voltaj değerleri 16 ve 24 kV olduğunda elde edilen kapsüllere göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.5.a-b).



Şekil 4.5. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, **b:** Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, **c:** Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu

Nan Chen vd. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium longum* bakterileri, %0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 3.0 oranlarında prebiyotik (fruktooligosakkarit, izomaltooligosakkarit), kazein ve sodyum aljinat içeren kaplama çözeltileri kullanılarak ekstrüzyon yöntemiyle kapsüllenmiştir. Kapsüle bakterilerin pH değeri 2.0 olan simüle mide sıvısındaki canlılığının belirlenmesi amacıyla 1 g kapsül 10 mL simüle mide sıvısı içerisine aktarılmıştır. Sodyum aljinat (%2.0), kazein (%0.5) ve izomaltooligosakkarit (%3.0) içeren kaplama çözeltisiyle üretilen kapsüllerde *L. acidophilus* ve *L. casei* sayıları toplamı ile *B. longum* ve *B. bifidum* sayıları toplamı sırasıyla 6.42 ile 7.43 log kob/g; sodyum aljinat (%2.0), kazein (%0.5), fruktooligosakkarit (%3.0) içeren kaplama çözeltisiyle üretilen kapsüllerde *L. acidophilus* ve *L. casei* sayıları toplamı ile *B. longum* ve *B. bifidum* sayıları toplamı sırasıyla 6.54 ile 7.34 log kob/g; sodyum aljinat (%2.0), kazein (%0.5) içeren kaplama çözeltisiyle üretilen kapsüllerde *L. acidophilus* ve *L. casei* sayıları toplamı ile *B. longum* ve *B. bifidum* sayıları toplamı ise sırasıyla 5.25 ile 7.56 log kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, kapsülasyonda kaplama çözeltisine fruktooligosakkarit ilavesi ile gastrointestinal koşullar altında kapsüldeki bakterilerin canlılığının daha yüksek düzeyde korunduğu belirtilmiştir.

Lactobacillus rhamnosus GG bakterisinin aljinat (40 g/m³), kitosan (4 g/m³) ve inülin (20 g/m³) içeren kaplama çözeltileri ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak kapsüllendiği bir başka çalışmada, kapsüle *Lb. rhamnosus* GG'un pH değeri 2.0 olan ortamdaki canlılığı belirlenmiştir. Sodyum aljinat ve kitosan içeren kaplama çözeltileri ile üretilen kapsüllerdeki *Lb. rhamnosus* GG'nin canlı kalma oranlarının pH değeri 2.0 olan ortama 30 dakika ve 60 dakika maruziyet sonunda yaklaşık olarak sırasıyla %90 ve %65 düzeylerinde, sodyum aljinat, kitosan ve inülin içeren kaplama çözeltileri ile üretilen kapsüllerdeki *Lb. rhamnosus* GG'nin canlı kalma oranlarının ise pH değeri 2.0 olan ortama 30 dakika ve 60 dakika maruziyet sonunda yaklaşık olarak sırasıyla %95 ve %70 düzeylerinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, düşük pH değerindeki ortama maruziyette kapsüldeki bakteri canlılığı üzerine kaplama çözeltisine ilave edilen inülinin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Gandomi vd. 2016).

İnülin, gıdalarda depolama boyunca probiyotik bakterilerin canlılığını koruyarak aktivitelerini sürdürmelerini sağlamaktadır (Pimentel vd. 2016). Nan Chen vd. (2005) ve Gandomi vd. (2016) tarafından yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, kaplama çözeltisi içinde inülin kullanımının, kapsüllerdeki canlı bakteri sayısının korunmasını sağladığı görülmektedir. Söz konusu çalışmalar ile benzer şekilde çalışmamız kapsamında inülin içeren kaplama çözeltileri kullanarak elde ettiğimiz kapsüllerin de *S. thermophilus* canlılığını daha yüksek düzeyde koruduğu belirlenmiştir.

4.1.3.2. Düşük pH değerindeki ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı

Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre üretilen kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılmadan önce ve 2 saat maruz bırakıldıktan sonra belirlenmiştir. (Çizelge 4.11). pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 5.96 log kob/g ile 7.63 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsüldeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)	pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)
1	20/4	20	10	7.56±0.57	7.52±0.38
2	24/0	24	10	6.83±0.11	6.83±0.01
3	20/4	20	10	7.31±0.57	7.30±0.38
4	16/8	16	10	7.43±0.49	6.92±0.00
5	16/8	20	8	8.08±0.28	7.63±0.00
6	24/0	16	10	4.98±0.74	4.98±0.00
7	20/4	20	10	7.34±0.57	6.64±0.38
8	20/4	24	8	7.37±0.08	7.37±0.01
9	20/4	16	8	6.85±0.03	6.42±0.10
10	24/0	20	8	6.35±0.00	6.35±0.36
11	20/4	20	10	5.98±0.57	5.96±0.38
12	20/4	16	12	6.81±0.05	6.20±0.01
13	20/4	24	12	7.83±0.01	7.18±0.01
14	24/0	20	12	6.85±0.03	6.68±0.01
15	16/8	24	10	7.07±0.07	7.05±0.01
16	16/8	20	12	7.79±0.60	7.44±0.02
17	20/4	20	10	7.32±0.57	6.73±0.38

Çizelge 4.12’de verilen ANOVA analiz sonuçlarına göre, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının, model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$), model uyumsuzluğunun etkisinin hiçbir parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Ayrıca düşük pH değerindeki ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı üzerine peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının ve kapsülasyon işlemi sırasında uygulanan voltajın etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin yeterli kesinliğin göstergesi olan sinyal gürültü oranı, pH değeri 2.5 olan ortama maruziyete karşı dayanıklılık için 8.63 olarak belirlenmiş ve bu değerin 4’ün üzerinde olması model denkleminin yeterli olduğunu göstermiştir. Önerilen model denklemin R^2 ve $R^2_{düz}$ değerleri sırasıyla 0.57 ve 0.48 olarak tespit edilmiştir.

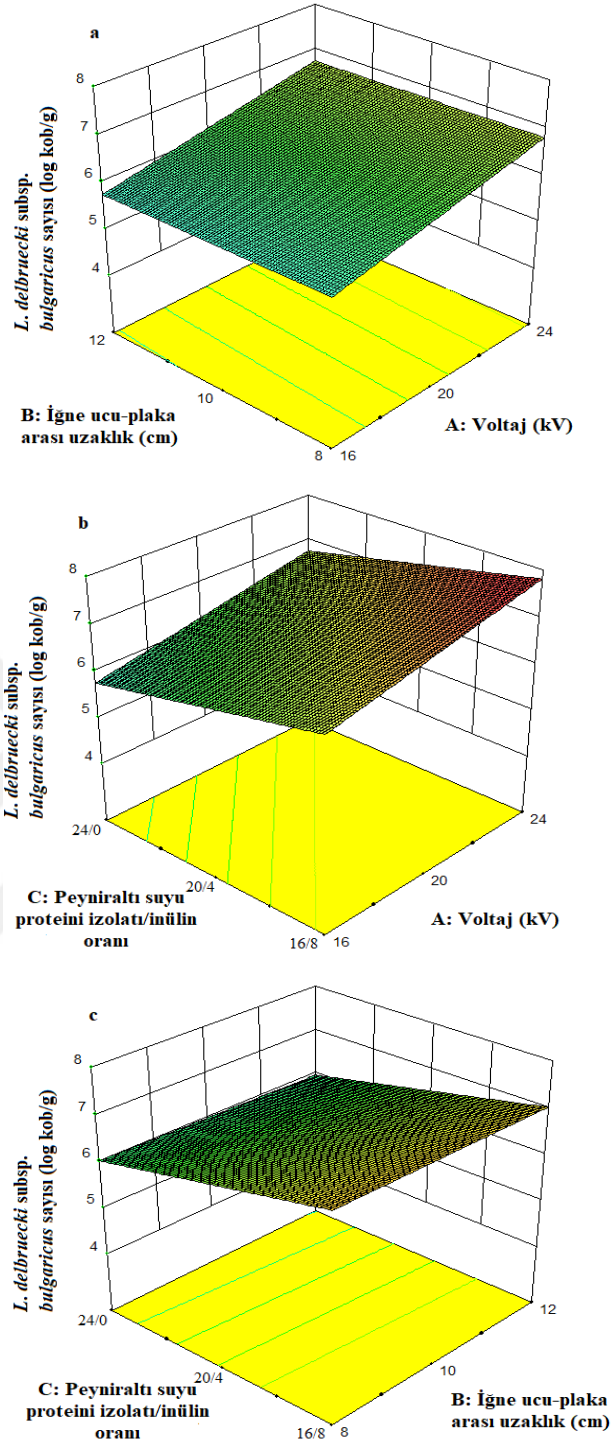
Çizelge 4.12. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler

Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri			
Model (lineer)	3	4.14	0.01*			
A	1	1.91	0.014*			
B	1	9.355E-003	0.84			
C	1	2.22	0.01*			
Kalıntı	13	3.06				
Model uyumsuzluğu	9	1.56	0.85			
Saf hata	4	1.50				
Toplam	16	7.20				
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Liner	0.57	0.48	0.31	7.16	4.94	8.63

* İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli.

A: Voltaj (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R² düz: Düzeltilmiş R²

pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı için istatistiksel olarak önemli varyasyon kaynakları kullanılarak KDD = $+6.78 + 0.49A - 0.53C$ birinci dereceden polinomial model eşitliği elde edilmiştir. İşlem değişkenlerinin pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı üzerindeki etkilerinin gözlemlenebilmesi için elde edilen modeller kullanılarak yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri oluşturulmuştur. Bu grafiklerin oluşturulabilmesi için işlem değişkenlerinden herhangi biri deneysel tasarımın merkez noktasında sabit tutulmuş, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonları çıkarılmıştır. Şekil 4.6'da kapsül yükleme verimliliği üzerinde etkili ve etkisiz olan faktörlere ait yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri yer almaktadır. Kapsül üretimi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklık değerlerinin, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un sayısında önemli bir farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.6.a-c). Kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu oranının artmasıyla pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un sayısının azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6.b-c). Kapsülasyon işlemi sırasında uygulanan voltaj değerinin artmasıyla pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un canlılığının daha yüksek düzeyde korunduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.6.a-b).



Şekil 4.6. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, **b:** Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, **c:** Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül yükleme verimliliği üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu

Yoğurt bakterilerinin kapsülasyonu ile bu bakterilerin mide stres koşullarına direnç göstererek insan sağlığına yararlı etkilerinin artırılmasının amaçlandığı bir çalışmada, sodyum aljinat/süt oranı 1/1, 1/2, 1/3, 1/4 olacak şekilde sodyum aljinat (%1, 1.5, 2.0) ve süt ile hazırlanan kaplama çözeltileri kullanılarak üretilen *Lactobacillus bulgaricus* kapsüllerinin pH değerleri 2.0 ve 2.5 olan ortamlara karşı dirençleri incelenmiştir. Kapsüle *L. bulgaricus*'un düşük pH değerindeki ortamlarda canlılığının belirlenmesi amacıyla 0.5 g kapsül 4.5 mL simüle mide sıvıları (pH 2.0 ve pH 2.5) içerisine aktarılıp 120 dakika boyunca 37°C'de bekletilmiştir. Sodyum aljinat (%1) kullanılarak üretilen kapsüldeki *L. bulgaricus*'un sayısının başlangıçta 10 log kob/g olduğu, pH değeri 2.5 olan ortama 120 dakika maruziyet sonunda ise kapsüldeki *L. bulgaricus*'un sayısının değişmediği, pH 2.0 olan ortamda ise 30 dakika boyunca *L. bulgaricus* sayısında düşüş gözlemlenmezken 120 dakika maruziyet sonunda *L. bulgaricus* sayısının yaklaşık olarak 8 log kob/g'a düştüğü belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, *L. bulgaricus*'un canlılığının kapsülasyon sonrası mide sıvısı pH'sındaki ortamlara karşı korunduğu ($P<0.05$) ve kapsüle *L. bulgaricus*'un pH değeri 2.5 olan ortama karşı dayanımının %100 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kapsüle *L. bulgaricus*'un dayanımı ile ilgili durumun, sütün bileşiminde bulunan peyniraltı suyu proteinin kapsüllerdeki tamponlama kabiliyetinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir (Shi vd. 2013b).

Zaeim vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus plantarum* ve *Bifidobacterium lactis* bakterileri inülin (50 mg/g) veya nişasta (50 mg/g) ile karıştırılarak sodyum aljinat (50 mg/g) çözeltisine ilave edilmiştir. Elde edilen çözeltiye kitosan (%0.2) eklenerek kaplama çözeltisi hazırlanmış ve bakteriler kaplama çözeltisi kullanılarak elektropüskürtme yöntemi ile iki aşamalı olarak kapsüllenmiştir. Elektropüskürtme işlemi; 100 mm iğne ucu-plaka arası uzaklıkta, 9.5 kV voltaj altında ve 5 mL/saat akış hızında gerçekleştirilmiştir. pH değeri 2.5 olan ortamda bakteri canlılığını belirlemek amacıyla 10^8 – 10^9 kob/g bakteri içeren 1 g kapsül 9 mL mide sıvısına (pH 2.5) ilave edilmiş ve 37°C'de 120 dakika boyunca tutulmuştur. Nişasta ve kalsiyum aljinat/kitosan ile hazırlanan kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüllerdeki *Lb. plantarum* ATCC 8014 ve *B. lactis*'in sayıları başlangıçta yaklaşık 8.5 log kob/g olarak bulunurken, mide sıvısında 120. dakika bekletme sonunda kapsüllerdeki *Lb. plantarum* ATCC 8014 ve *B. lactis*'in sayılarının sırasıyla 6.0 ile 8.0 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. İnülin ve kalsiyum aljinat/kitosan kullanılarak elde edilen kapsüllerdeki *Lb. plantarum* ATCC 8014 ve *B. lactis*'in sayıları başlangıçta yaklaşık 8.0 log kob/g olarak bulunurken, mide sıvısında 120. dakika bekletme sonunda kapsüllerdeki *Lb. plantarum* ATCC 8014 ve *B. lactis*'in sayıları ise sırasıyla yaklaşık 5.85 log kob/g ve 5.90 log kob/g olarak belirlenmiştir. İnülin varlığında serbest formdaki *Lb. plantarum* sayısı ortalama olarak başlangıçta ve mide sıvısında 120 dakika maruziyet sonunda sırasıyla 8.0 ve 1.7 log kob/g olarak belirlenirken, mide sıvısında 120 dakika tutulan *Lb. plantarum*'un sayısının başlangıça göre yaklaşık olarak 6.3 log birimlik düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Kapsüle *Lb. plantarum*'un sayısında ise başlangıça göre mide sıvısında 120 dakika bekletme sonunda yaklaşık 3.4 log birimlik azalma olduğu saptanmıştır. İnülin ile hazırlanan kapsüllerdeki *B. lactis* sayısında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Mide sıvısında 120 dakika tutulan serbest formdaki *B. lactis*'in sayısında başlangıça göre yaklaşık 3.8 log birimlik azalma gözlenirken, aynı şartlarda kapsüle *B. lactis*'in sayısında 2.9 log birimlik azalma tespit edilmiştir. Kaplama çözeltisinde inülin kullanılmasının düşük pH değerindeki

ortamlarda kapsüldeki bakteri canlılığının korunmasına pozitif etki sağladığı ulaşılan sonuçlar ile desteklenmektedir. Uzun zincirli bir yapısı olan inülinin kümelenebilme özelliği sebebiyle kapsül içerisinde çözünmeyen kütleler oluşturduğu ve gözenekleri tıkayarak H⁺ iyonunun kapsüllere nüfuz etmesini geciktirebileceği değerlendirilmiştir (Barclay vd. 2010).

Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, sodyum aljinat (%2) ve farklı oranlarda (%0.5, 1.0, 1.5) galaktooligosakkarit ve/veya inülin içeren çözeltiler kullanılarak ekstrüzyon yöntemiyle kapsüllenen *Lactobacillus acidophilus* 5 ve *Lactobacillus casei* 01 bakterileri kitosan çözeltisi ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Elde edilen 1 g kapsül 10 mL'lik simüle mide sıvısı (pH 1.55, 37°C, 120 dakika) içerisine aktarılmış ve bakterilerin canlılığı incelenmiştir. Sodyum aljinat kullanılarak üretilen kapsüller çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuştur. *In vitro* gastrointestinal sistem koşullarında ortalama *L. acidophilus* sayısı kontrol grubu örneklerde başlangıçta ve 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda sırasıyla 9.4, 5.6, 4.8, 3.5 ve 2.7 log kob/g; %1.5 oranında galaktooligosakkarit içeren kapsüllerde 8.3, 4.2, 4.6, 4.9 ve 5.2 log kob/g; %1.5 oranında inülin içeren kapsüllerde 8.6, 3.1, 3.7, 4.4 ve 4.8 olarak belirlenmiştir. *L. casei* sayısı kontrol grubu örneklerde 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda sırasıyla 8.7, 5.6, 4.4, 3.6 ve 2.3 log kob/g; %1.5 galaktooligosakkarit içeren kapsüllerde 7.6, 3.4, 3.7, 4.3 ve 4.7 log kob/g; %1.5 oranında inülin içeren kapsüllerde 8.5, 2.5, 3.6, 4.4 ve 5.0 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, probiyotik mikroorganizmalar için karbon ve azot kaynağı olan galaktooligosakkarit ve inülinin kaplama çözeltisinde kullanılması ile kapsüllerdeki probiyotik mikroorganizmaların canlılığının korunmasının artacağı ve elde edilen kapsüllerin insan kalın bağırsağına ulaşp burada probiyotik mikroorganizma kolonizasyonuna katkı sağlayabileceği değerlendirilmiştir (Krasaekoopt ve Watcharapoka 2014).

Haghshenas vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada; *Enterococcus durans* 39C bakterisini ekstrüzyon yöntemi ile %1.5 oranında sodyum aljinat, %0.5 oranında karnıyarık otu ekstraktı ile %0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 oranlarında inülin ve çemen otu ekstraktı kullanarak hazırladıkları kaplama çözeltilerini kullanarak kapsüllemişlerdir. Çalışmada elde edilen kapsüllerin *in vitro* gastrointestinal sistemde canlılıklarını belirlemek amacıyla 100 mg kapsül 20 mL simüle mide sıvısına (pH 1.8, 37°C) ilave edilmiştir. 0, 30, 60, 90 ve 120 dakika simüle mide sıvısına maruz bırakılan kapsüller 120. dakika sonunda %0.5 (w/v) oranında safra içeren simüle ince bağırsak sıvısına aktarılmıştır (pH 6.8, 37°C, 120 dakika). Çalışmada %2 (w/v) oranında aljinat içeren kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüller kontrol olarak kabul edilmiştir. Simüle mide sıvısı içerisinde bakteri sayısı 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda yaklaşık olarak sırasıyla serbest bakteri için 9.5, 5.0, 4.5, 4.0 ve 3.5 log kob/g; %1.5 oranında inülin ilavesi yapılan kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüllerde sırasıyla 9.5, 6.0, 6.2, 6.5 ve 7.0 log kob/g; %1.5 oranında çemenotu ilavesi yapılan kaplama çözeltisi kullanılarak elde edilen kapsüllerde sırasıyla 9.6, 6.0, 6.5, 6.8 ve 7.0 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kaplama çözeltisine inülin ve çemen otu ilavesinin bakteri canlılığının korunması üzerinde olumlu etkisinin olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar genel olarak diğer çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte, görülen bazı farklılıkların kullanılan kaplama çözeltisinin özelliklerinden ve kapsül üretim tekniğinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

4.1.4. Optimizasyon sonuçlarının deneysel olarak doğrulanması

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin kapsülasyonu için işlem koşulları olarak seçilen peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı, voltaj (kV), iğne ucu-plaka arası uzaklık (cm); düşük pH değerindeki ortama karşı direnci en yüksek, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüllerin üretilmesi sağlamak amacıyla istenebilirlik fonksiyonu yaklaşımı ve eş yükselti eğrilerinin kullanılmasıyla optimize edilmiştir. Ayrıca optimum noktaların belirlenmesinde ikinci dereceden polinomial modeller kullanılmıştır.

Kapsül yükleme verimliliği değerleri en yüksek olan kapsüllerin üretilmesi için Yanıt Yüzey Metodu ile istenebilirlik fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında, optimum nokta için birbirine yakın 47 çözüm önerilmiş ve bunlardan 10 tanesi ile ilgili bilgiler Çizelge 4.13’de verilmiştir. Sunulan çözümlerden istenebilirlik değeri en yüksek olan birinci çözüm seçilmiştir. Söz konusu çözümde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8, voltaj değeri 19.60 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değeri 8.00 cm olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. En yüksek kapsül yükleme verimliliği için belirlenen optimum noktalar

No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsül yükleme verimliliği (%)	İstenebilirlik değeri
1	16/8	19.60	8.00	91.69	0.99
2	16/8	19.65	8.00	91.68	0.99
3	16/8	19.56	8.00	91.68	0.99
4	16/8	19.53	8.00	91.68	0.99
5	16/8	19.44	8.00	91.67	0.98
6	16/7.95	19.61	8.00	91.67	0.98
7	16/7.96	19.72	8.00	91.67	0.98
8	16/8	19.82	8.00	91.66	0.98
9	16/8	19.89	8.00	91.65	0.98
10	16/8	19.24	8.00	91.63	0.98

pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin sayılarının en yüksek olduğu optimum nokta, istenebilirlik fonksiyonu yaklaşımı uygulanarak saptanmıştır. Yanıt Yüzey Metodu ile önerilen 100 çözüm içerisinde 10 tanesi ile ilgili bilgiler Çizelge 4.14’de verilmiş ve istenebilirlik değeri en yüksek olan birinci çözüm seçilmiştir. Söz konusu çözümde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının 16.82/7.18, voltaj değerinin 23.84 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 10.01 cm olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.14. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki en yüksek *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının elde edilebilmesi için belirlenen optimum noktalar

No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüldeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)	İstenebilirlik değeri
1	16.82/7.18	23.84	10.01	7.66	1.00
2	16.21/7.79	22.97	9.90	7.64	1.00
3	16.20/7.80	23.93	8.03	7.79	1.00
4	16.00/8.00	24.00	10.00	7.79	1.00
5	16.28/7.72	22.94	8.79	7.64	1.00
6	16.03/7.97	23.83	11.82	7.73	1.00
7	16.18/7.82	23.41	11.43	7.67	1.00
8	16.90/7.10	23.82	9.01	7.67	1.00
9	16.02/7.98	22.48	8.10	7.63	1.00
10	16.05/7.95	23.21	8.15	7.72	1.00

Optimizasyon çalışmamızın bir diğer cevabı olan kapsüllerin düşük pH değerine sahip ortama karşı en yüksek dayanımı ve en yüksek kapsül yükleme verimliliği özelliklerinin her ikisinin de sağlaması amacıyla istenebilirlik fonksiyonu yaklaşımı uygulanarak optimum nokta için birbirine yakın 42 çözüm üretilmiştir. Çizelge 4.15’de bu çözümlerden 10 tanesi ile ilgili bilgiler verilmiş ve bunlar arasından istenebilirlik değeri en yüksek olan birinci çözüm seçilmiştir. Elde edilen çözümler incelendiğinde söz konusu çözümde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının 16/8, voltaj değerinin 22.07 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 8.00 cm olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.15. pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki en yüksek *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı ve en yüksek kapsül yükleme verimliliği özelliklerinin her ikisinin de sağlanması amacıyla belirlenen optimum noktalar

No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsül yükleme verimliliği (%)	pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüldeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)	İstenebilirlik değeri
1	16/8	22.07	8.00	88.99	7.59	0.95
2	16/8	22.05	8.00	89.04	7.59	0.95
3	16/8	22.11	8.00	88.91	7.59	0.95
4	16/8	21.96	8.00	89.24	7.58	0.95
5	16/8	22.02	8.00	89.11	7.58	0.95
6	16/8	22.32	8.00	88.43	7.62	0.95
7	16/8	22.35	8.00	88.34	7.62	0.95
8	16/8	21.92	8.01	89.27	7.57	0.95
9	16/8	21.68	8.00	89.77	7.54	0.95
10	16/8	22.07	8.02	88.87	7.59	0.95

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* içeren kapsüllerde cevaplar için gerçekleştirilen doğrulama denemelerinin sonuçlarının modellenen tahminlenen değerlere oldukça yakın ve hata değerlerinin %10'nun altında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Optimum noktalarda doğrulama deney sonuçları

	Peyniraltı suyu proteini izolatı/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu- plaka arası uzaklık (cm)	Kapsül yükleme verimliliği (%)	pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüldeki <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)
	16.82/7.18	23.84	10.01	Tahminlenen değer	7.66
Opt-pH				Deneysel değer	84.00±0.22
				Hata (%)	7.20±0.12
					6.00
	16/8	22.07	8.00	Tahminlenen değer	88.99
Opt-VpH				Deneysel değer	82.46±0.26
				Hata (%)	7.00±0.01
					6.53
					7.77
	16/8	19.60	8.00	Tahminlenen değer	91.69
Opt-V				Deneysel değer	84.78±0.20
				Hata (%)	6.71±0.04
					6.91

Opt-pH: pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-VpH: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-V: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüller

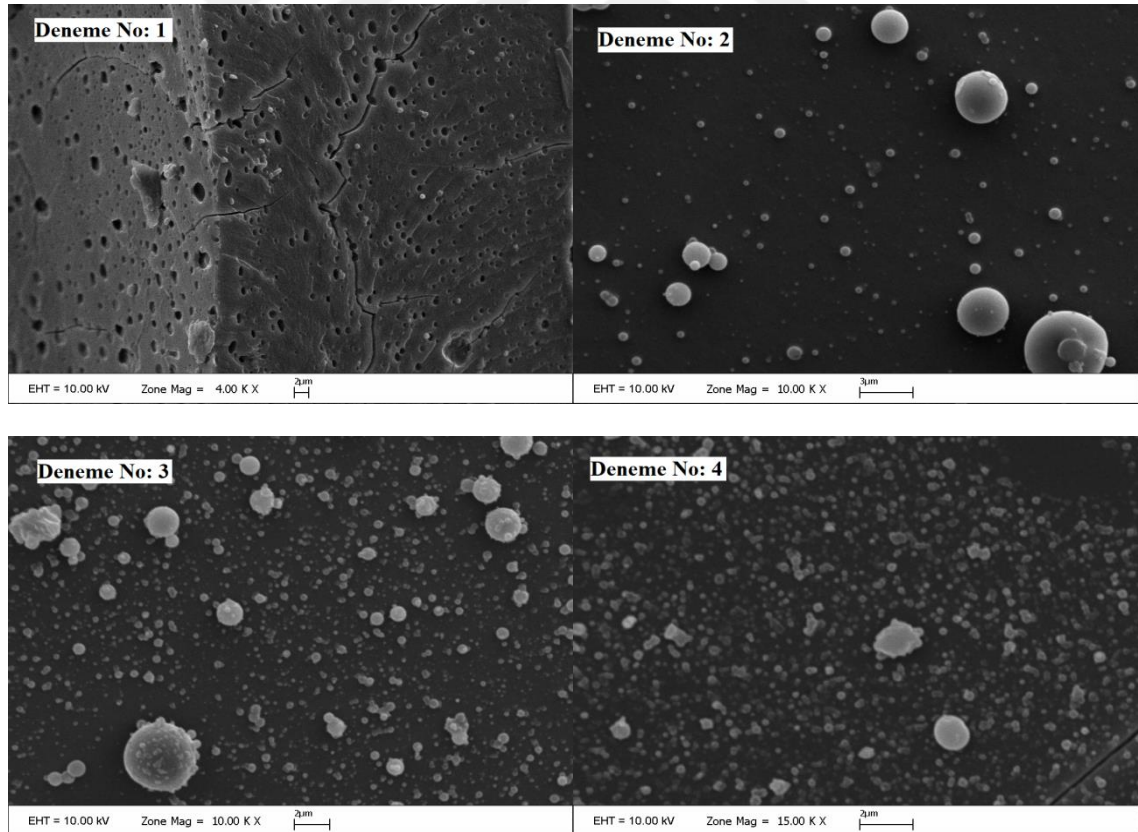
4.1.5. Kapsüllerin SEM görüntüleri ve boyutları

Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre elde edilen kapsüllerin SEM görüntüleri Şekil 4.7’de verilmiştir. SEM görüntülerinin Bs200Pro yazılımı kullanılarak işlenmesi ile kapsüllerin çevre uzunlukları belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.17’de sunulmuştur.

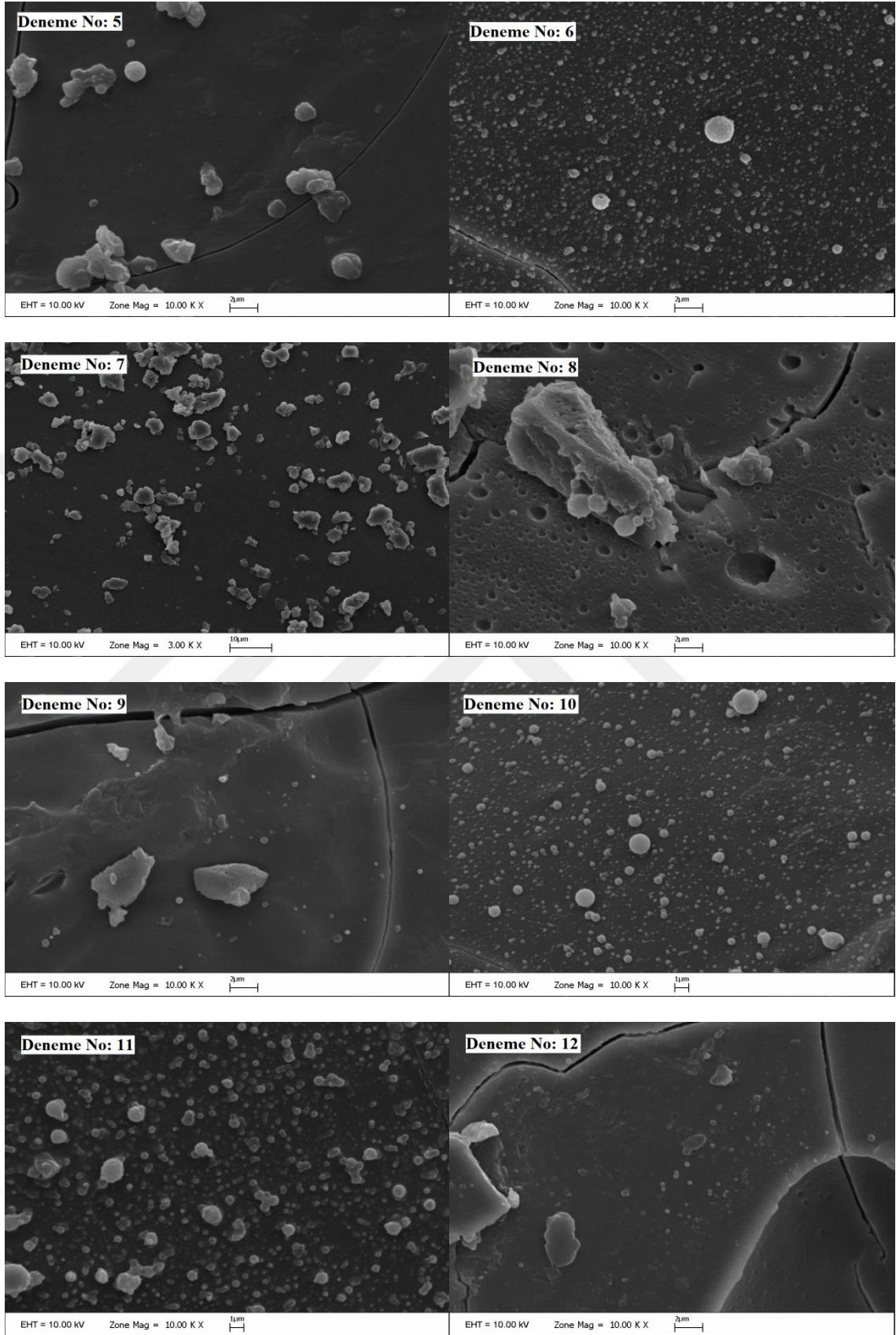
Moayyedi vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, kapsülasyon işleminde kullanılan yöntemin elde edilen kapsüllerin morfolojisini etkilediği belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada; elektropüskürtme, dondurarak kurutma ve püskürterek kurutma yöntemleriyle kapsülasyon işlemleri gerçekleştirilmiş ve elektropüskürtme teknolojisi kullanılarak elde edilen kapsüllerin, dondurarak kurutma ve püskürterek kurutma yöntemleri ile üretilen kapsüllere kıyasla daha küresel şekilde olduğu belirtilmiştir. Ayrıca %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatı + %4 oranında inülin + %1 oranında arabik gam içeren çözelti kullanılarak elde edilen kapsüllerin, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatı çözeltisini, %20 oranında peyniraltı suyu proteini izolatı + %4 oranında inülin içeren çözeltiler kullanılarak elde edilen kapsüllere kıyasla daha

fazla kümelenme gösterdiği tespit edilmiştir. Kapsüller arasında belirtilen bu kümelenmenin, kaplama çözeltisinde kullanılan arabik gamın sahip olduğu düşük camsı geçiş sıcaklığı sonucunda oluşan yapışkanlık sebebiyle ortaya çıktığı değerlendirilmiştir. Gözlenen kümelenmenin aksine kapsüllerin birbirine yapışmaması ise kaplama çözeltisinde bulunan peyniraltı suyu proteinlerinin kapsül yüzeyine göçü sonrasında oluşan hızlı yüzey oluşumu ile açıklanmaktadır. Çalışmamız sonucunda elde edilen kapsüllerin (Şekil 4.7) küresel şekillere sahip olduğu ve kapsüller arasında kümeleşme gözlemlenmesine karşın yapışma belirlenememiştir. Bu doğrultuda, elde edilen kapsüllerin söz konusu çalışma ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

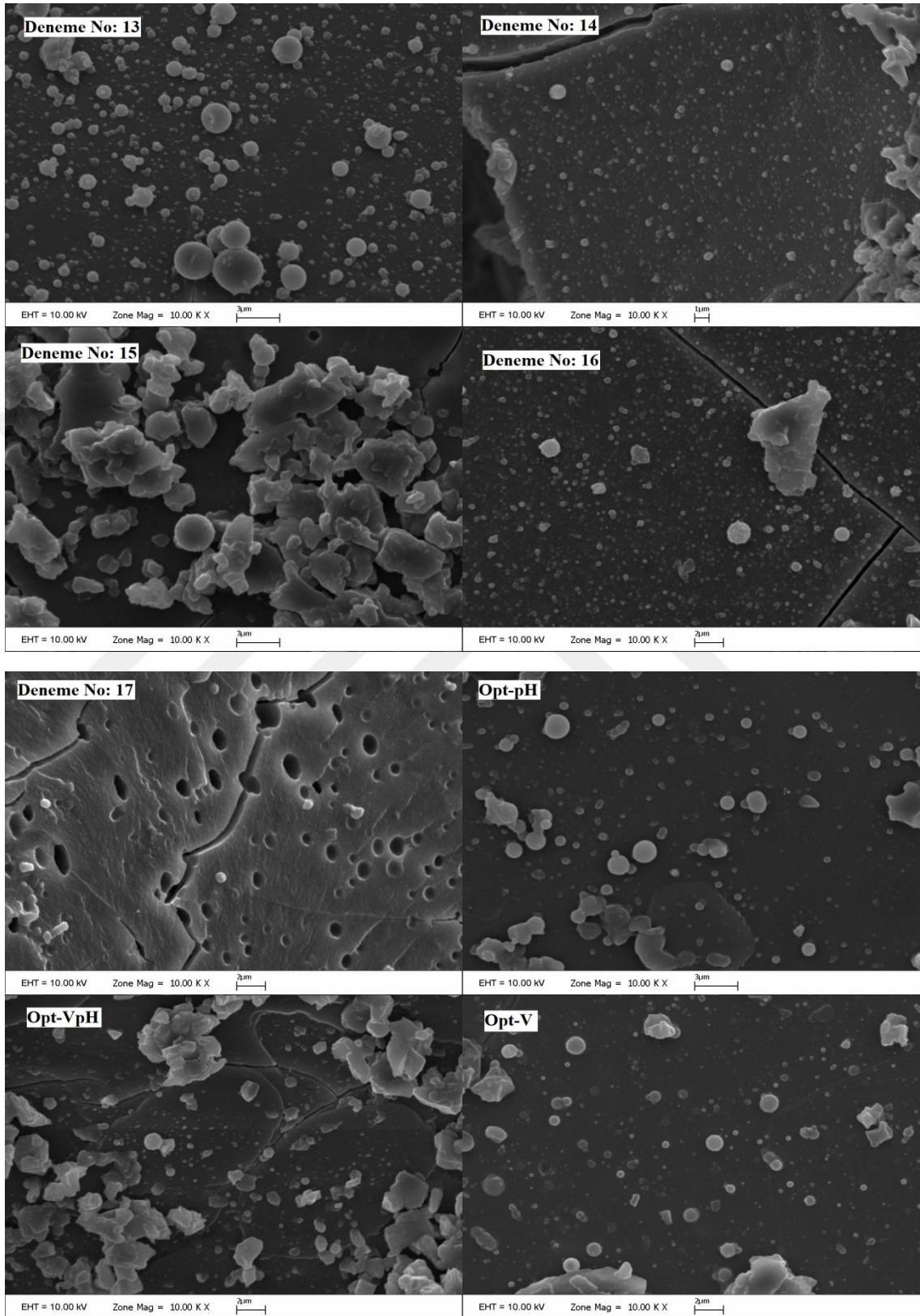
En düşük çevre uzunluğu değeri ortalama 120.10 μm ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 20/4 olan çözelti kullanılarak 20 kV voltaj altında ve 10 cm iğne ucu-plaka arası uzaklıkta üretilen kapsüllerde (No 7) belirlenirken, en büyük çevre uzunluğu değeri ise ortalama 159.00 μm ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8 olan çözelti kullanılarak 20 kV voltaj altında ve 10 cm iğne ucu-plaka arası uzaklıkta üretilen kapsüllerde (No 15) tespit edilmiştir. Optimizasyon cevabına göre elde edilen kapsüllerin en düşük çevre uzunluğu değeri ortalama 114.30 μm ile en yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerde saptanırken, en büyük çevre uzunluğu değeri ortalama 138.25 μm ile en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüllerde belirlenmiştir (Çizelge 4.18).



Şekil 4.7. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre optimum noktadaki kapsüllerin SEM görüntüleri



Şekil 4.7'nin devamı



Şekil 4.7'nin devamı

Çizelge 4.17. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsüllerin çevre uzunluğu (μm)
1	20/4	20	10	130.00±86.47
2	24/0	24	10	139.07±44.20
3	20/4	20	10	130.51±28.82
4	16/8	16	10	139.89±20.80
5	16/8	20	8	136.05±22.76
6	24/0	16	10	153.97±35.55
7	20/4	20	10	120.10±20.56
8	20/4	24	8	154.81±24.76
9	20/4	16	8	121.93±18.95
10	24/0	20	8	152.73±20.84
11	20/4	20	10	130.32±18.54
12	20/4	16	12	121.94±18.95
13	20/4	24	12	132.36±14.95
14	24/0	20	12	116.51±22.05
15	16/8	24	10	159.00±11.22
16	16/8	20	12	126.54±16.64
17	20/4	20	10	120.12±22.10

Çalışmamızda ANOVA analizi gerçekleştirilmiş, analiz sonuçları Çizelge 4.19’da verilmiştir. Kapsüllerin çevre uzunluğu sonuçlarının model ile uyumlu olduğu ($P<0.05$) belirlenirken, model uyumsuzluğunun da kapsüllerin çevre uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Çizelge incelendiğinde, kapsüllerin çevre uzunlukları üzerine iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.18. Optimizasyon cevabına göre elde edilen kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri

	Peyniraltı suyu proteini izolatı/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	Kapsüllerin çevre uzunluğu (μ m)
Opt-pH	16.82/7.18	23.84	10.01	122.98 $\pm$ 18.33
Opt-VpH	16/8	22.07	8.00	114.30 $\pm$ 24.77
Opt-V	16/8	19.60	8.00	138.25 $\pm$ 25.79

Opt-pH: pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-VpH: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-V: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüller

Çizelge 4.19. Kapsüllerin çevre uzunluğu değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA sonuçları ve kapsüllerin çevre uzunluğu için model uyumluluğunun test edilebilmesi için kullanılan istatistiksel veriler

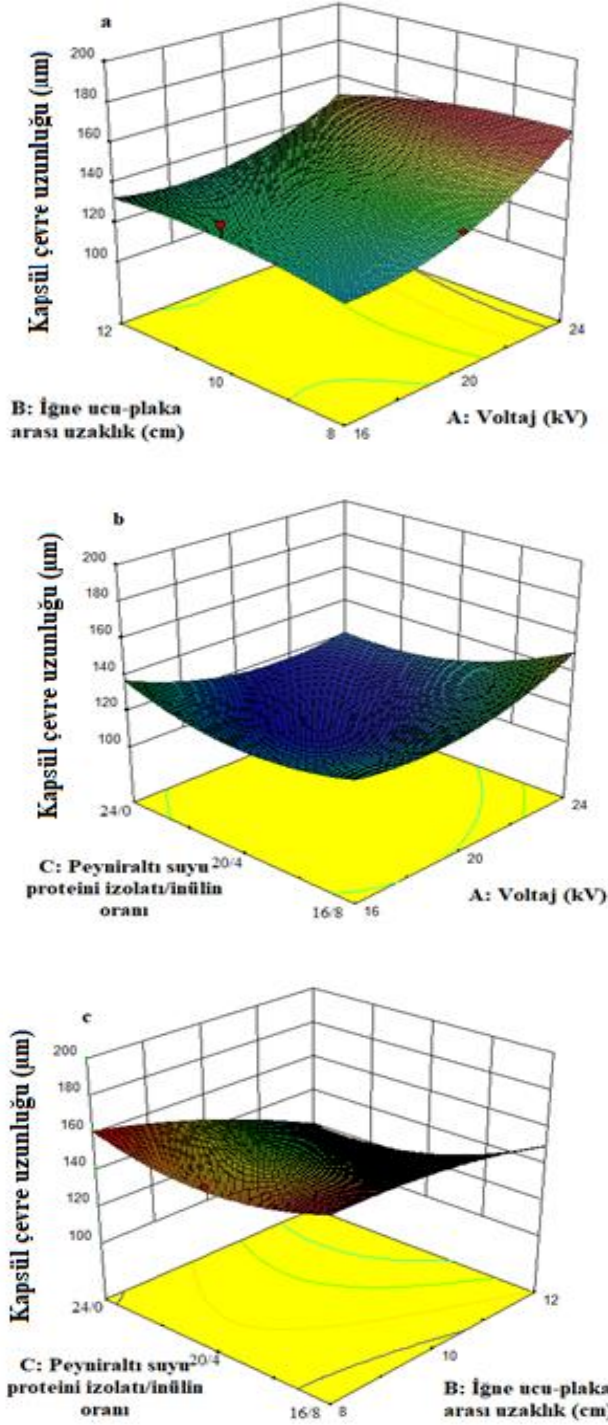
Varyasyon kaynakları	SD	HKT	P değeri			
Model (Kuadratik)	9	2548.77	0.02*			
A	1	282.15				
B	1	380.89	0.06			
C	1	0.080	0.01*			
AB	1	126.11	0.97			
AC	1	289.17	0.18			
BC	1	178.36	0.06			
A ²	1	489.80	0.12			
B ²	1	75.68	0.02*			
C ²	1	307.90	0.29			
Kalıntı	7	402.26	0.02*			
Model uyumsuzluğu	3	278.34				
Saf hata	4	123.92	0.16			
Toplam	16	2951.03				
Model	R ²	R ² _{düz}	Pred-R ²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik	0.86	0.69	-0.57	5.64	4647.03	7.65

* İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli. A: Voltaj (kV), B: İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm), C: Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranını, SD: Serbestlik derecesi, HKT: Hata kareler toplamı, R²_{düz}: Düzeltilmiş R²

Kapsüllerin çevre uzunlukları için kuadratık regresyon analizi sonucunda elde edilen eşitlik, istatistiksel olarak önemsiz değişkenlerin çıkarılmasıyla indirgenmiş değerler üzerinden $KDD = +126.21 + 0.10C - 4.24B^2 + 10.98C^2$ ikinci dereceden polinomiyal model eşitliği elde edilmiştir. Çizelge 4.19'da verilen ANOVA analizi sonuçlarına göre, kapsüllerin çevre uzunluklarının model ile uyumlu olduğu ($P < 0.05$), model uyumsuzluğunun hiçbir parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli olmadığı

($P>0.05$) tespit edilmiştir. Bununla birlikte, modellerin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığını belirten regresyon katsayısı (R^2) ve düzeltilmiş regresyon katsayısı ($R^2_{düz}$) değerlerinin sırasıyla 0.86 ve 0.69 olduğu belirlenmiştir. Kapsüllerin çevre uzunluk değerleri üzerine etkili ve etkisiz olan faktörlere ait yanıt yüzey grafikleri ve eş yükselti eğrileri Şekil 4.8’de verilmiştir. Kapsülasyon işlemi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklık (cm) değerinin ve peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışıyla kapsüllerin çevre uzunluk değerinin azaldığı (Şekil 4.8.a-b-c), kapsülasyonda uygulanan voltaj (kV) değerinin artışıyla ise kapsüllerin çevre uzunluk değerinin arttığı (Şekil 4.8.a-b) belirlenmiştir.





Şekil 4.8. a: Sabit peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranında (20/4) iğne ucu-plaka arası uzaklık ve voltajın kapsül çevre uzunluğu üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu, **b:** Sabit iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinde (10 cm) peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve voltaj değerinin kapsül çevre uzunluğu üzerine olan etkisinin yüzey fonksiyonu, **c:** Sabit voltaj (20 kV) değerinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin kapsül çevre uzunluğu üzerine etkisinin yüzey fonksiyonu

Partikül boyutu dağılımı, üretilen kapsüllerin gıda içerisine ilave edilmesini doğrudan etkileyen önemli fiziksel özelliklerden biridir (Moayyedi vd. 2018). Kapsül boyutu, kapsüllenen mikroorganizma canlılığını ve kapsül içeren gıdaların duyuşal özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Kapsül boyutunun artışıyla beraber olumsuz koşullara karşı probiyotik mikroorganizmaların daha iyi korunduğu; ancak gıdaların duyuşal özelliklerinin söz konusu artıştan olumsuz etkilendiği bildirilmektedir (Poletto 2019). Zaeim vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *Lactobacillus plantarum* ve *Bifidobacterium lactis* bakterilerinin inülin, nişasta, Ca aljinat/kitosan taşıyıcı bileşenleri ile elektropüskürtme yöntemi kullanılarak kapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında bakteri süspansiyonu ilavesi yapılmadan gerçekleştirilen kapsülasyon işlemi sonucunda elde edilen kapsüllerin çapının ortalama 460 µm olduğu, bakteri süspansiyonu ilavesi yapıldığında ise kapsüllerin çapının ortalama 710 µm'ye yükseldiği belirlenmiştir. Kaplama çözeltisine inülin ve nişasta ilavesi yapıldığında ise kapsül çapları sırasıyla ortalama 830 µm ve 1 mm olarak saptanmıştır. İnülin ve nişasta ilavesinin kaplama çözeltisinde toplam kurumaddeyi artırdığı ve bunun sonucu olarak da elde edilen kapsüllerin çapında artış meydana geldiği belirtilmiştir.

Kumherová vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 bakterisi inülin ve aljinat ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak kapsülenmiş ve inülin ilavesinin kapsül boyutunda artışa sebep olduğu belirtilmiştir. Kaplama çözeltisine inülin ilavesi yapılmadığında ve %1 oranında inülin ilave edildiğinde elde edilen kapsüllerin boyutları sırasıyla 1.7 ve 2.3 mm olarak tespit edilmiştir.

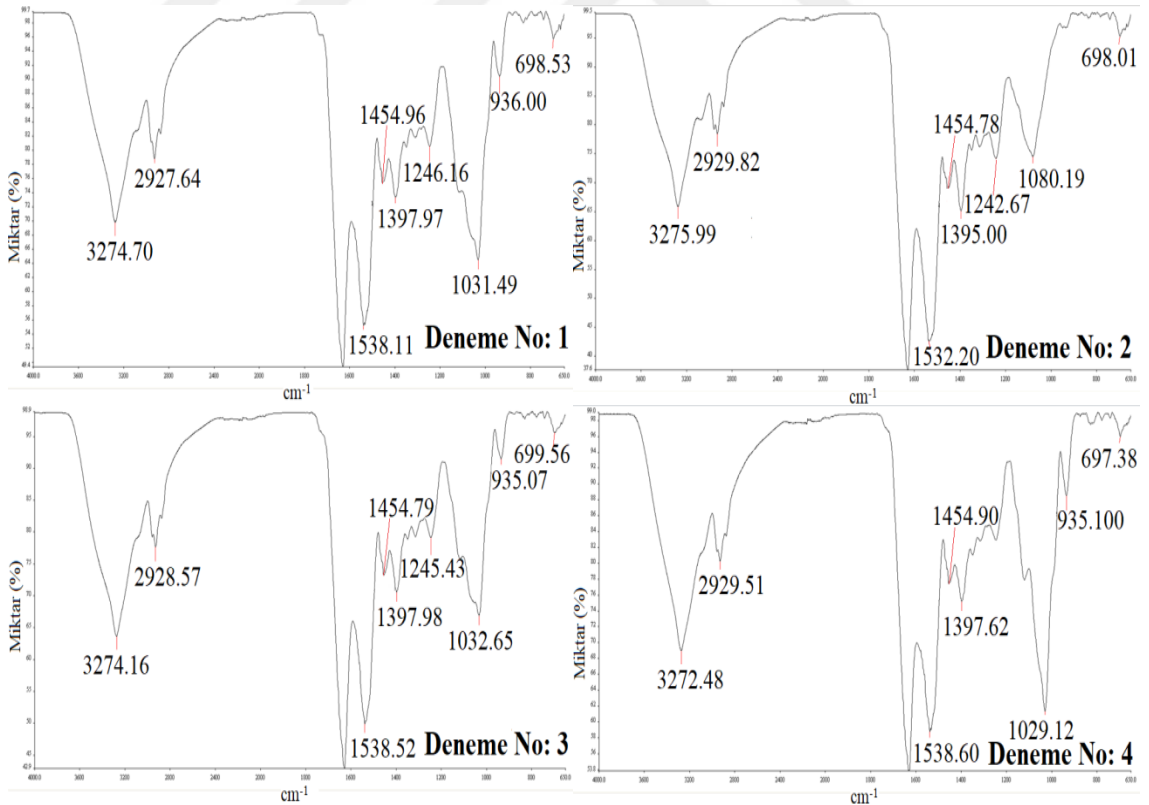
Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* BB-12 bakterisinin sodyum aljinat, keçi sütü ve inülin kullanılarak kapsüllendiği bir başka çalışmada; sodyum ajinat ve keçi sütü içeren kaplama çözeltisine inülin ilavesinin kapsül boyutunda önemli ($P<0.05$) düzeyde artışa sebep olduğu belirlenmiştir. İnülin içermeyen ve %2 oranında inülin içeren kapsüllerin boyutları sırasıyla 2.79 ve 3.41 mm olarak saptanmıştır. Çalışma kapsamında kaplama çözeltisinde artan inülin miktarına paralel olarak kapsül boyutunda meydana gelen artış, inülin miktarının artışı ile oratılı olarak kaplama çözeltisinin viskozitesinin arttırmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Prasanna ve Charalampopoulos 2019).

Çalışmamız kapsamında elde edilen kapsüllerin boyutlarının, yoğurdun doku ve görünümü üzerinde herhangi olumsuz herhangi bir etki göstermediği belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, çalışmamızdan elde edilen sonuçların yukarıda bahsi geçen diğer çalışmaların sonuçları ile genel olarak benzerlik gösterdiği, oluşan bazı farklılıkların ise kullanılan kapsülasyon yöntemi ve kaplama çözeltisinde kullanılan bileşen farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

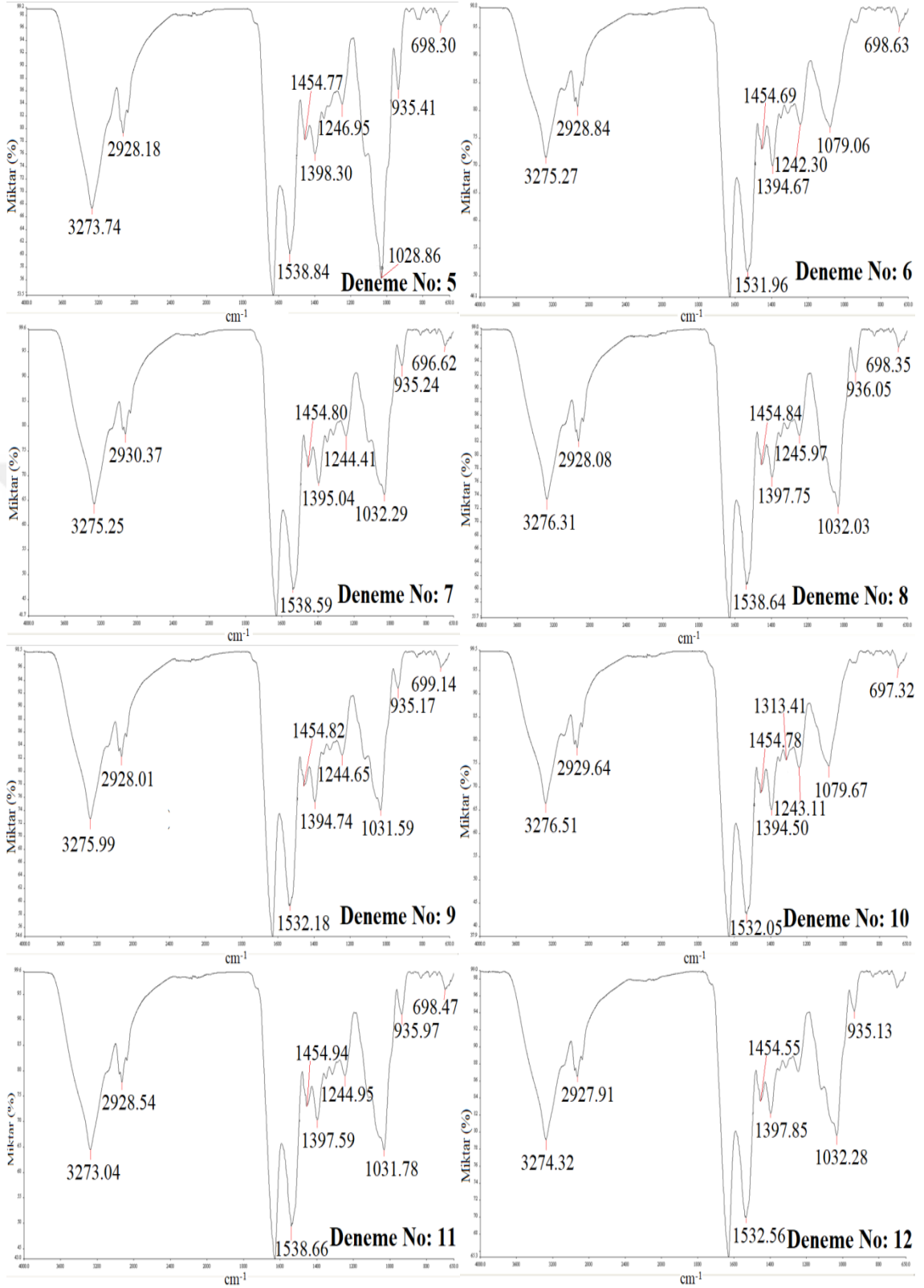
4.1.6. FTIR sonuçları

FTIR, karmaşık yapılarda bulunan fonksiyonel grupların belirlenmesini sağlayan bir tekniktir (Cujic vd. 2016; Sahin vd. 2018). Çalışma kapsamında elde edilen kapsüllerin kızılötesi spektrumları 4000-650 cm^{-1} arasında tespit edilmiş ve bu alan karbonhidratların C-C, C-O gerilme titreşimlerine ve C-O-H'nin bükülme titreşimlerine karşılık gelen karakteristik titreşim bantlarını temsil etmektedir. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre elde edilen S.

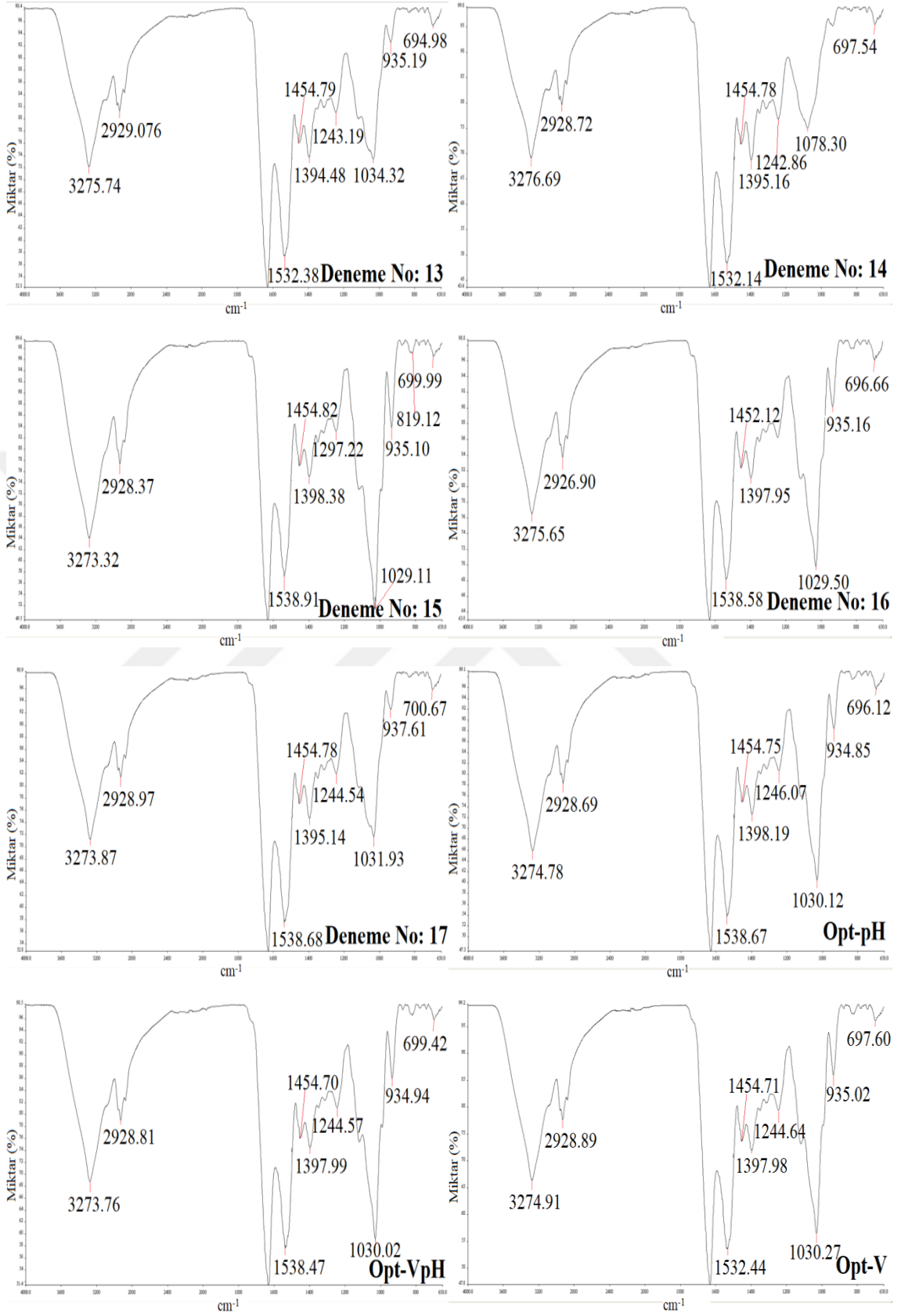
thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerinin karakteristik özellikleri 3272-3277, 2926-2930, 1531-1538, 1452-1454, 1394-1398, 1242-1247, 1028-1081, 933-937, 694-700 cm^{-1} 'de görülmektedir (Şekil 4.9). Peyniraltı suyu proteini izolatında bulunan NH_2 ve NH gruplarının absorpsiyon bölgesi ile örtüşen OH ve $\text{CH}_2\text{-OH}$ gruplarının gerilme titreşimleri 3272-3277 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bandında tespit edilmiştir. İnülin oranının yüksek olduğu örneklerde bu bölgedeki yoğunluk inülin içeriğindeki yüksek $-\text{OH}$ grubu sayısı ile açıklanmaktadır. İnülin ile etkileşimler sebebiyle kapsülde bulunan simetrik ve asimetrik C-H grupları 2926-2930 cm^{-1} aralığındaki absorpsiyon bandında tespit edilirken, peyniraltı suyu proteini izolatında bulunan ikincil amid yapısı 1531-1538 cm^{-1} aralığında saptanan C-N gerilmesi ve N-H titreşim bağı ile açıklanabilmektedir. C-H_2 ve C-H_3 bağları 1452-1454 cm^{-1} 'de görülmektedir. Kapsüllerdeki birincil amid yapısı 1242-1398 cm^{-1} arasında bulunan N-H grubu ile açıklanmaktadır. İnülindeki C-O gruplarının gerilme bağları 1028-1081 cm^{-1} 'de saptanmıştır. Peyniraltı suyu proteini izolatı ve inülin etkileşiminden kaynaklanan RCO-OH gruplarının OH bağı 933-937 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Aromatik bileşenlerden kaynaklanan zayıf bağlar ise 694-700 cm^{-1} 'de aralığında görülürken, inülin ilavesi karakteristik piklerin farklı derecelere kaymasına sebep olmaktadır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, bir dizi elektrostatik etkileşimin, kimyasal etkileşimlerden daha fazla gerçekleştiği ve elde edilen sonuçların konu ile ilgili diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Fernandes vd. 2014; Moghaddam vd. 2015; Xu vd. 2015; Cujic vd. 2016; Sarabandi vd. 2019; Almasi vd. 2020; Maleki vd. 2020; Duman ve Karadag 2021; Shen vd. 2021).



Şekil 4.9. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme deseninde yer alan ve optimum noklardaki kapsüllerin FTIR spektrumları



Şekil 4.9'un devamı



Şekil 4.9'un devamı

4.1.7. DSC analiz sonuçları

Bileşenlerin termal özelliklerini gösteren camsı ve erime geçiş sıcaklıkları, bileşenlerin yapısal özellikleri hakkında daha iyi bilgi sahibi olunmasını sağlamaktadır (Costa vd. 2013). Çalışmamızda elde edilen kapsüllerin termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla DSC kullanılmıştır. Çizelgeler 4.20 ve 4.21’de belirtilen entalpi (ΔH) değişikliklerinin, kapsülleme sürecinde peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Peyniraltı suyu proteini izolatu ve inülin arasındaki etkileşim ağ yapısına sebep olabileceği gibi, peyniraltı suyu proteini izolatinin yüzeyinde inülinin kaplanması da sağlayabilmektedir (Rosolen vd. 2019). Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre elde edilen kapsüllerdeki en düşük ekzotermik tepe sıcaklığı (kristalizasyon sıcaklığı) 127.94°C ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 24/0 olan kapsülde belirlenirken (No 14), en yüksek ekzotermik tepe sıcaklığı değeri 171.81°C ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 16/8 olan kapsülde (No 5) tespit edilmiştir (Çizelge 4.20). Optimizasyon cevabına göre üretilen 3 farklı kapsül arasında ise en düşük ekzotermik tepe sıcaklığı 145.41°C ile pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerde belirlenirken, en yüksek ekzotermik tepe sıcaklığı 170.12°C ile en yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerde saptanmıştır (Çizelge 4.21). Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranındaki değişikliğe bağlı olarak DSC grafiklerinde farklılıkların meydana geldiği görülmüştür. DSC grafiklerindeki endotermik tepe sıcaklıkları; α -laktalbumin, β -laktoglobulin olan başlıca peyniraltı suyu proteinlerinin erime noktalarına atfedilmektedir. Ekzotermik geçişin ise laktoz kristalizasyonu, Maillard reaksiyonu, proteinlerin ve karbonhidratların ayrışması gibi birden fazla reaksiyonla ilgili olabileceği belirtilmektedir (Rosolen vd. 2019). Camsı geçiş sıcaklığı (Tg), kapsüller için büyük önem taşımaktadır. Tg; bileşenlerin kimyasal yapısı, moleküler ağırlığı, zincir yapısı ve çapraz bağları gibi pek çok yapıdan etkilenmektedir. Çevre sıcaklığı Tg’yi aşarsa, yapışkanlık, kristalleşme, kekleşme veya yapısal çökme gibi durumların oluşmasına bağlı olarak fiziksel özellikler değişebilmektedir (Botrel vd. 2014). Polisakkaritler, camsı halin oluşumunda birincil bileşenler olarak kabul edilmektedir. Polipeptitlerin, Tg’den yüksek sıcaklıklarda polisakkaritlerden daha kararlı olduklarını ve polisakkaritlerin camsı hal özelliklerini değiştirebilecekleri yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu sebeple camsı yapının oluşumunda, polipeptitler polisakkaritlerden daha fazla etkili olmaktadır. Bu bilgilere dayanarak polipeptitlerin polisakkaritler ile kombinasyonunun yüksek bir koruyucu etkiye sahip olması muhtemeldir (Maleki vd. 2020). Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre elde edilen kapsüllerdeki en düşük Tg 59.34°C değeri ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 24/0 olan kapsülde (No 14) saptanırken, en yüksek Tg ise 123.27°C değeri ile peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı 20/4 olan kapsülde (No 7) tespit edilmiştir (Çizelge 4.20). Optimizasyon cevabına göre belirlenen kapsüllerdeki en düşük Tg değeri 87.13°C ile en yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerde saptanırken, en yüksek Tg ise 91.07°C değeri ile en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerde belirlenmiştir (Çizelge 4.21). Çalışmamızda elde edilen entalpi, ekzotermik tepe noktası ve camsı geçiş sıcaklığı

değerlerinin yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Botrel vd. 2014; Alehosseini vd. 2019; Rosolen vd. 2019).

Çizelge 4.20. Box-Behnken Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre hazırlanan kapsüllerin entalpi (ΔH), kristalizasyon sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığı değerleri

Deneme No	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	ΔH (J/g)	Kristalizasyon sıcaklığı (°C)	Camsı geçiş sıcaklığı (°C)
1	20/4	20	10	137.76	169.56	110.00
2	24/0	24	10	118.90	161.18	88.86
3	20/4	20	10	273.85	154.79	116.03
4	16/8	16	10	129.63	162.63	95.01
5	16/8	20	8	117.47	171.81	91.61
6	24/0	16	10	155.92	169.00	88.53
7	20/4	20	10	187.97	157.40	123.27
8	20/4	24	8	166.64	170.75	88.19
9	20/4	16	8	172.03	148.77	92.03
10	24/0	20	8	180.91	153.50	105.16
11	20/4	20	10	171.14	140.05	82.86
12	20/4	16	12	107.59	165.95	81.45
13	20/4	24	12	128.22	139.60	82.95
14	24/0	20	12	112.14	127.94	59.34
15	16/8	24	10	189.07	163.25	86.09
16	16/8	20	12	135.29	162.75	94.00
17	20/4	20	10	200.94	157.84	88.71

Çizelge 4.21. Optimizasyon cevabına göre elde edilen kapsüllerin entalpi (ΔH), kristalizasyon sıcaklığı ve camsı geçiş sıcaklığı değerleri

	Peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı	Voltaj (kV)	İğne ucu-plaka arası uzaklık (cm)	ΔH (J/g)	Kristalizasyon sıcaklığı (°C)	Camsı geçiş sıcaklığı (°C)
Opt-pH	16.82/7.18	23.84	10.01	123.54	145.41	90.18
Opt-VpH	16/8	22.07	8.00	129.17	170.12	87.13
Opt-V	16/8	19.60	8.00	141.99	163.41	91.07

Opt-pH: pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-VpH: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine ve pH değeri 2.5 olan çözelti içerisinde en yüksek canlılığa sahip yoğurt bakterilerini içeren kapsüller

Opt-V: En yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüller

4.2. Süt ve Yoğurtlarda Yapılan Analizlere Ait Sonuçlar

4.2.1. Yoğurt üretiminde kullanılan rekonstitüye sütün bileşimi

Yoğurt örneklerinin üretiminde kullanılan rekonstitüye sütün kurumadde, protein, kül, yağ ve titrasyon asitliği değerlerinin sırasıyla ortalama 12.11 ± 0.26 , 4.58 ± 0.24 , 0.86 ± 0.08 , 0.27 ± 0.03 ve 0.31 ± 0.01 olduğu tespit edilirken, pH değerinin ortalama 6.73 ± 0.05 olduğu belirlenmiştir.

4.2.2. Yoğurt örneklerine ait analiz sonuçları

4.2.2.1. Yoğurt örneklerine ait kurumadde, yağ, protein ve kül miktarları

Yoğurt örneklerine ait; kurumadde, yağ, protein ve kül miktarları sırasıyla ortalama 12.87 ± 0.46 , 0.23 ± 0.07 , 6.04 ± 0.94 ve 1.30 ± 0.19 olarak tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde yağsız yoğurt için yağ oranının en az %0.5'e eşit veya daha fazla, protein oranının ise en az %3 olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmamızda üretilen yoğurt örneklerinin yağ ve protein değerleri söz konusu Tebliğde belirtilen kriterler ile uyumludur (Anonim 2009).

4.2.2.2. Yoğurt örneklerine ait pH değerleri

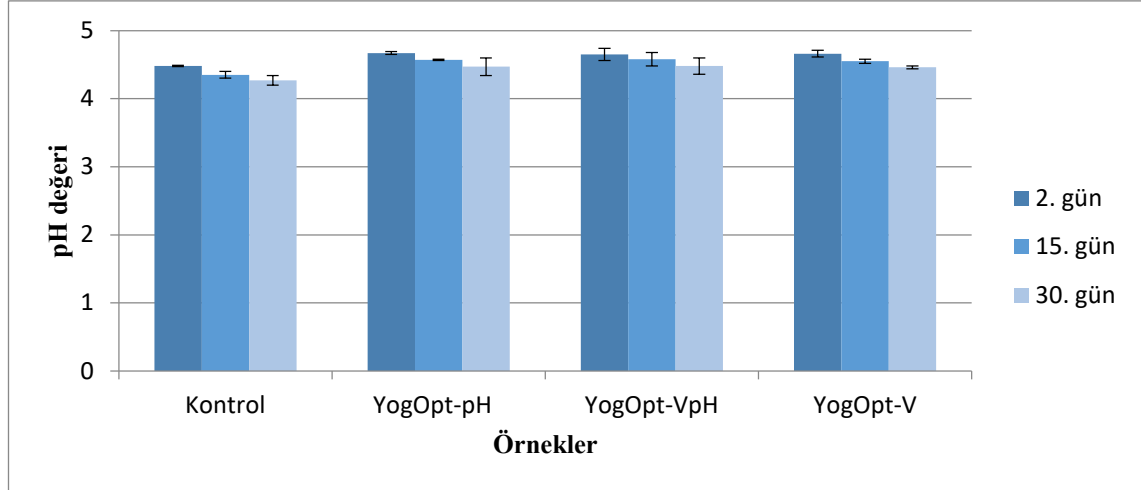
Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerleri ve bu değerlerin depolama sırasındaki değişimi Çizelge 4.22'de verilmiştir. Çizelge 4.22 incelendiğinde, 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda yapılan pH analizlerinde belirlenen değerlerin depolamanın 2. günün sonunda 4.48 ile 4.67, 15. günün sonunda 4.35 ile 4.58 ve 30. günün sonunda 4.27 ile 4.48 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerlerinin grafiği Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.22. Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerleri

Örnek çeşidi	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol**	$4.48 \pm 0.01^*$	4.35 ± 0.05	4.27 ± 0.07
Yog _{Opt-pH}	4.67 ± 0.02	4.57 ± 0.01	4.47 ± 0.13
Yog _{Opt-VpH}	4.65 ± 0.09	4.58 ± 0.10	4.48 ± 0.12
Yog _{Opt-V}	4.66 ± 0.05	4.55 ± 0.03	4.46 ± 0.02

*Sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

**Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.10. Yoğurt örneklerine ait ortalama pH değerleri

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin pH değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarının (ürün çeşidi ve depolama süresi) örneklerin pH değeri üzerine $P < 0.001$ önem düzeyinde istatistiksel olarak etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen pH değerlerine ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	pH değeri		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	0.05	25.41***
Depolama (D)	2	0.08	37.09***
ÜxD	6	0.00	0.93

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

***İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.24'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ürün çeşidi değişimine bağlı olarak pH değerlerinin farklılık gösterdiği ve kontrol örneğinin depolama boyunca ortalama pH değerinin kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerine kıyasla düşük olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin artışına bağlı olarak yoğurt örneklerinde pH değerinin düştüğü tespit edilmiştir.

Çizelge 4.24. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	pH değeri
Kontrol ^{**}	4.37±0.10 b [*]
Yog _{Opt-pH}	4.57±0.11 a
Yog _{Opt-VpH}	4.57±0.13 a
Yog _{Opt-V}	4.53±0.10 a
Depolama	
2. gün	4.62±0.09 a
15. gün	4.49±0.11 b
30. gün	4.42±0.13 c

^{*} Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

^{**} Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* BB-12 bakterisinin sodyum aljinat, keçi sütü ve inülin kullanılarak kapsüllenip keçi sütünden üretilen yoğurda ilave edildiği bir çalışmada, yoğurda ilave edilen bakterinin bulunduğu formun (serbest veya kapsül) ve kaplama çözeltisinde bulunan inülin oranının keçi sütünden üretilen yoğurtların pH değerlerini istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P<0.05$) etkilediği belirlenmiştir. Tüm yoğurt örneklerinin pH değerlerinde 4°C’de 28 günlük depolama süresince aşamalı olarak bir azalma meydana geldiği saptanmıştır. Çalışma kapsamında üretilen yoğurt örneklerinde başlangıçta yaklaşık olarak 4.50 seviyesinde belirlenen pH değerlerinin serbest formda bakteri ilave edilen yoğurt örneklerinde 28. günün sonunda 4.15 değerine düştüğü, kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneklerinde ise 28. günün sonunda 4.30-4.25 aralığında olduğu belirtilmiştir. Depolama boyunca yoğurtların pH değerindeki düşüşün yoğurt starter kültüründeki bakterilerin metabolik aktivitesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Prasanna ve Charalampopoulos 2019).

Lactobacillus acidophilus ve *Bifidobacterium lactis* bakterinlerin Ca-aljinat ile nişasta kullanılarak kapsüllendiği bir çalışmada, 4°C’de 6 haftalık depolama süresi boyunca herhangi bir kapsüle bakteri ilave edilmeyen kontrol örneğinin en düşük pH değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yoğurt bileşiminde bulunan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin buzdolabı sıcaklığında aktivitelerini sürdürdükleri ve laktozun fermentasyonu ile düşük miktarda laktik asit üretimine devam ettikleri bildirilmiştir. Bu sebeple yoğurt örneklerinin pH değerlerinin depolama boyunca düştüğü değerlendirilmiştir (Kailasapathy 2006).

Bifidobacterium bifidum F-35 bakterisinin peyniraltı suyu proteini izolatu, Na-aljinat ve transglutaminaz enzimi ile kapsüllenenek yoğurt içerisine ilave edildiği bir çalışmada, 4°C’de 14 günlük depolama süresince yoğurtların pH değerlerinde aşamalı bir azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Kontrol örneğinde (Serbest veya kapsüle *B. bifidum* F-35 ilavesi yapılmayan) depolamanın 1. ve 14. günlerinde pH değerlerinin sırasıyla ortalama 4.22 ve 4.20, serbest formda *B. bifidum* F-35 içeren yoğurt örneklerinde pH değeri sırasıyla ortalama 4.20 ve 4.17, kapsüle formda bakteri içeren

yoğurt örneklerinde ise bu değerlerin sırasıyla ortalama 4.42 ve 4.30 olduğu bulunmuştur (Mousa vd. 2014).

Bifidobacterium breve R070 (BB R070) ve *Bifidobacterium longum* R023 (BL R023) bakterilerinin süt yağı ve denatüre peyniraltı suyu proteini kullanılarak kapsüllenip sonrasında yoğurda ilave edildiği bir çalışmada, tüm yoğurt örneklerinin pH değerlerinin 4°C’de 28 günlük depolama boyunca düştüğü saptanmıştır. Kontrol örneğinde (BB R070 ve BL R023 içermeyen) pH değeri depolamanın 1. gününde 4.0-4.5 arasında değişirken, 28. günün sonunda 3.5-4.0 arasında değiştiği belirlenmiştir. Kapsüle formda BB R070 ve BL R023 ilave edilen yoğurt örneklerinde ise başlangıçta yaklaşık olarak 4.5 olan pH değerinin, 28. günün sonunda yaklaşık 4.0’a düştüğü tespit edilmiştir (Picot ve Lacroix 2004).

Bifidobacterium bifidum BB01 bakterisinin ksantan ve kitosan taşıyıcıları ile kapsüllendikten sonra yoğurda ilave edildiği bir çalışmada ise 4°C’de 21 günlük depolama boyunca kontrol örneğinin (*Bifidobacterium bifidum* BB01 içermeyen) pH değerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bir düşüş meydana geldiği belirtilmiştir. Serbest formda *Bifidobacterium bifidum* BB01 ilavesinin yapıldığı yoğurt örneklerinin pH değerleri depolamanın 1. ve 21. günlerinde sırasıyla 4.36 ve 2.47, kapsüle formda *Bifidobacterium bifidum* BB01 ilavesi yapılan yoğurt örneğinin pH değeri ise depolamanın 1. ve 21. günlerinde sırasıyla 4.36 ve 3.10 olarak belirlenmiştir (Chen vd. 2017). Çalışmamızdan elde edilen yoğurt örneklerinin pH değerleri ile ilgili sonuçların yukarıda belirtilen çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

4.2.2.3. Yoğurt örneklerine ait titrasyon asitliği değerleri

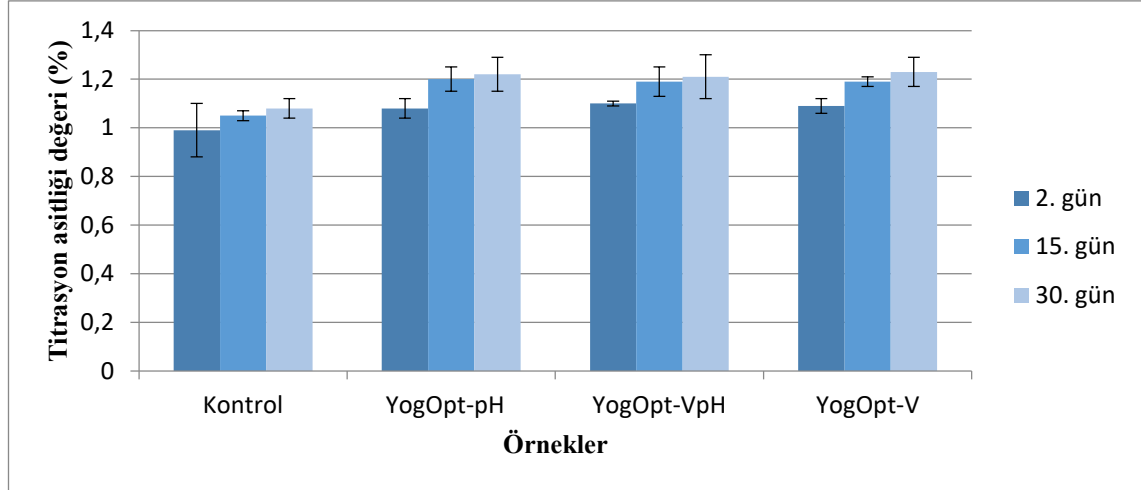
Yoğurt örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerleri (% laktik asit cinsinden) ve bu değerlerin depolama sırasındaki değişimi Çizelge 4.25’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; yoğurt örneklerinde depolamanın ikinci gününde ortalama titrasyon asitliği değerlerinin %0.99 ile %1.10, 15. günde %1.05 ile %1.20 ve 30. günde %1.08 ile %1.23 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama titrasyon asitliği değerlerinin grafiği Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Yoğurt örneklerine ait ortalama titrasyon asitliği değerleri (%)

Örnek çeşidi	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol ^{**}	0.99±0.11 [*]	1.05±0.02	1.08±0.04
Yog _{Opt-pH}	1.08±0.04	1.20±0.05	1.22±0.07
Yog _{Opt-VpH}	1.10±0.01	1.19±0.06	1.21±0.09
Yog _{Opt-V}	1.09±0.03	1.19±0.02	1.23±0.06

^{*}Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.

^{**}Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.11. Yoğurt örneklerine ait ortalama titrasyon asitliği değerleri

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynakları olan örnek çeşidi ve depolama zamanının $P < 0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği değerlerine (%) ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Titrasyon asitliği değeri (%)		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	0.02	172.45***
Depolama (D)	2	0.03	209.17***
ÜxD	6	0.00	0.041

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

***İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.27'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde depolama boyunca kontrol örneğinde titrasyon asitliği değerinin, kapsül ilave edilmiş yoğurt örneklerine göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.27. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen titrasyon asitliğideğerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	Titrasyon asitliği değeri (%)
Kontrol**	1.04±0.08 b*
Yog _{Opt-pH}	1.17±0.08 a
Yog _{Opt-VpH}	1.17±0.10 a
Yog _{Opt-V}	1.17±0.07 a
Depolama	
2. gün	1.06±0.09 c
15. gün	1.15±0.07 b
30. gün	1.18±0.09 a

* Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

**Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurdun laktik asit konsantrasyonu, kabul edilebilirliği ve kalitesi üzerinde etkili faktörlerden biridir (El vd. 2018).

Bifidobacterium longum B6 ve *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 bakterilerinin κ -carrageenan ile kapsüllenenek yoğurda ilave edildiği bir çalışmada 4.4°C'de 30 günlük depolama süresince yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri belirlenmiştir. Depolama zamanının artışıyla beraber tüm yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde artış olduğu belirtilmiş ve kontrol örneği ile kıyaslandığında kapsüle formda *B. longum* ATCC 15708 içeren yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. titrasyon asitliği değerleri depolamanın 1. ve 30. günlerinde kontrol yoğurt örneğinde sırasıyla yaklaşık olarak %1.00 ve 1.15, kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneklerinde ise sırasıyla yaklaşık %1.00 ve 1.95 olarak belirlenmiştir (Adhikari vd. 2000).

Bifidobacterium bifidum F-35 bakterisinin peyniraltı suyu proteini izolatu ve trasnglutaminaz enzimi ile kapsüllendikten sonra yoğurda ilave edildiği bir çalışmada kapsülasyon işleminin yoğurtların titrasyon asitliği değerlerini etkilediği ve 4°C'de 14 günlük depolama süresince yoğurtların titrasyon asitliği değerlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Kontrol örneğinde (*B. bifidum* F-35 ilavesi yapılmayan) depolamanın ilk gününde ortalama %1.37 olan titrasyon asitliği değerinin, 14 günlük depolama sonunda ortalama %1.45'e ulaştığı; kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin ise depolamanın 1. ve 14. günlerinde sırasıyla ortalama %1.52 ve %1.65 olduğu saptanmıştır (Mousa vd. 2014).

Titrasyon asitliği değeri gıdalardaki toplam asit içeriğini ifade etmektedir. Laktik asit, formik asit, gıda bileşiminde bulunan yağ asitleri ve amino asitler yoğurttaki toplam asit içeriğini oluşturmaktadırlar. Probiyotik bakteri karışımının (*L. acidophilus* LA-5 ve *B. lactis* BB-12) peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile kapsüle edildikten sonra yoğurt örneğine ilave edildiği başka bir çalışmada, 3 haftalık depolama boyunca tüm

örneklerin titre edilebilir asitlik değerlerinde artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Çalışmada bileşiminde kapsüle edilmiş bakteri bulunduran yoğurt örneğinin titrasyon asitliği değerinin kontrol örneğinin titrasyon asitliği değerine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneğinde depolamanın 1. ve 28. günlerinde titrasyon asitliği değerleri sırasıyla yaklaşık olarak %0.80 ve %0.85, kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneğinde ise sırasıyla yaklaşık %0.83 ve %0.88 olarak saptanmıştır (Ajlouni 2021). Çalışmamızdaki kontrol yoğurt örneği ile kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki farklılığın, konu ile ilgili diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde saptanan titrasyon asitliği değeri, kaplama çözeltisinde kullanılan bileşenlerin fizyokimyasal özelliklerinden etkilenebilmektedir (Tamjidi vd. 2011). Peyniraltı suyu proteini izolatu bileşiminde bulunan fosfat ve proteinden dolayı tamponlama yeteneğine sahiptir (Sun vd. 2020). Çalışmamızda, kontrol örneği ile kapsül ilavesi yapılan örneklerin yüksek titrasyon asitliği değerlerinin farklı olmasının kaplama çözeltisi içerisinde yer alan peyniraltı proteini izolatının tamponlama özelliğinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

4.2.2.4. Yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerleri

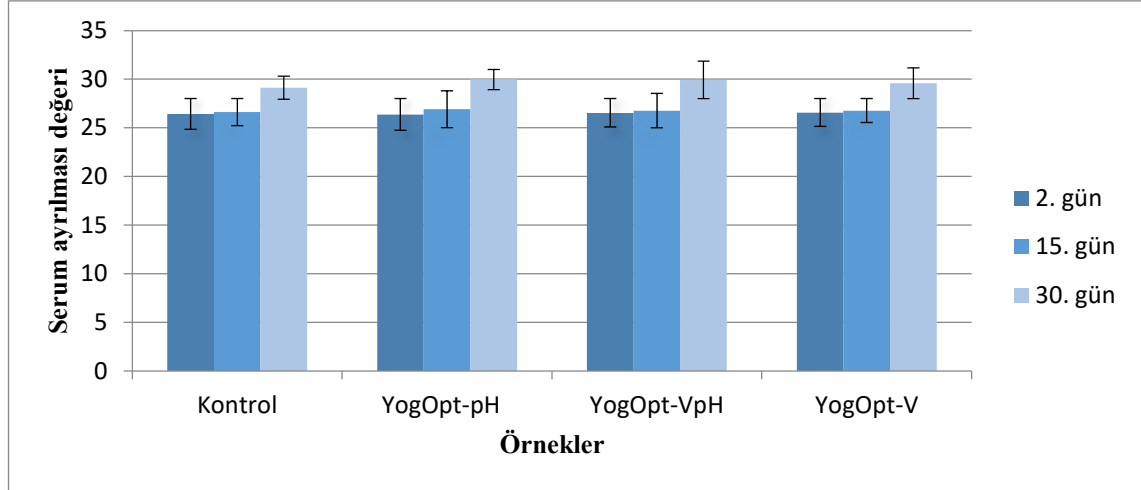
Depolama süresince yoğurt örneklerinde belirlenen serum ayrılması değerleri Çizelge 4.28’de verilmiştir. Örneklere ait ortalama serum ayrılması değerleri (%) depolamanın ikinci gününde 26.37 ile 26.57, 15. gün sonunda 26.61 ile 26.91 ve 30. gün sonunda 29.12 ile 29.97 arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama serum ayrılması değerlerinin grafiği Şekil 4.12’de görülmektedir.

Çizelge 4.28. Yoğurt örneklerine ait ortalama serum ayrılması değerleri (%)

Örnek çeşidi	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol ^{**}	26.42±1.58 [*]	26.61±1.39	29.12±1.18
Yog _{Opt-pH}	26.37±1.63	26.91±1.90	29.97±1.03
Yog _{Opt-VpH}	26.54±1.46	26.76±1.76	29.93±1.92
Yog _{Opt-V}	26.57±1.43	26.77±1.23	29.59±1.58

^{*}Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.

^{**}Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.12. Yoğurt örneklerine ait ortalama serum ayrılması değerleri

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından depolama süresinin örneklerin serum ayrılması değeri üzerinde $P < 0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen serum ayrılması değerlerine (%) ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serum ayrılması değeri		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	1.18	0.82
Depolama (D)	2	24.72	113.88 ***
ÜxD	6	0.09	0.42

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

***İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.30'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ürün çeşidi ve depolama zamanına bağlı olarak yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen serum ayrılması değerlerine (%) ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	Serum ayrılması değeri
Kontrol ^{**}	27.38±2.04
Yog _{Opt-pH}	27.75±2.28
Yog _{Opt-VpH}	27.74±2.31
Yog _{Opt-V}	27.64±1.98
Depolama	
2. gün	26.47±1.53 b [*]
15. gün	26.76±1.60 b
30. gün	29.65±1.68 a

^{*}Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

^{**}Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Serum ayrılması değeri, yoğurt için önemli bir kalite parametresi olarak kabul edilmektedir. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* DC 412 bakterisinin süt ve yağ kullanılarak oluşturulan ikili emülsiyon ile kapsülasyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada örneklerin serum ayrılması değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamış ve 4°C’de 28 günlük depolama süresince örneklerin serum ayrılması değerlerinin benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Serum ayrılması değerlerinin serbest bakteri ilavesi yapılan yoğurt örneğinde depolamanın 1. ve 28. günlerinde yaklaşık olarak sırasıyla %61 ve %55, kapsüle bakterilerin eklendiği yoğurt örneğinde ise sırasıyla yaklaşık olarak %50 ve %56 olduğu belirlenmiştir. Serum ayrılması, protein ağının bozulmasına ve ardından yoğurt jelinden serum fazının kaybına işaret etmektedir. Çalışmada kapsül ilavesinin serum ayrılmasını artırması beklenirken, kaplama çözeltisinin su tutma kapasitesine bağlı olarak yoğurtta serum ayrılmasının azaldığı bildirilmiştir (Ghorbanzade vd. 2017; El vd. 2018).

Probiyotik bakteri karışımının (*L. acidophilus* LA-5 ve *B. lactis* BB-12) peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile kapsüllendikten sonra yoğurt örneğine ilave edildiği bir başka çalışmada, kapsül ilavesi yapılmayan ve kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde serum ayrılması değerlerinin benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Tüm yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerlerinde 4°C’de 28 günlük depolama sonunda istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneğinde depolamanın 1. ve 28. günlerinde serum ayrılması değerleri sırasıyla %37.87 ve %35.80, kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneğinde ise sırasıyla %37.00 ve %37.41 olarak tespit edilmiştir (Ajlouni 2021). Çalışmamızdaki yoğurt örneklerine ait serum ayrılması değerlerinin konu ile ilgili yukarıda bahsi geçen diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

4.2.2.5. Yoğurt örneklerine ait viskozite değerleri

Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.31’de verilmiştir. Örneklere ait ortalama viskozite değerlerinin depolamanın ikinci gününde 840.00 ile

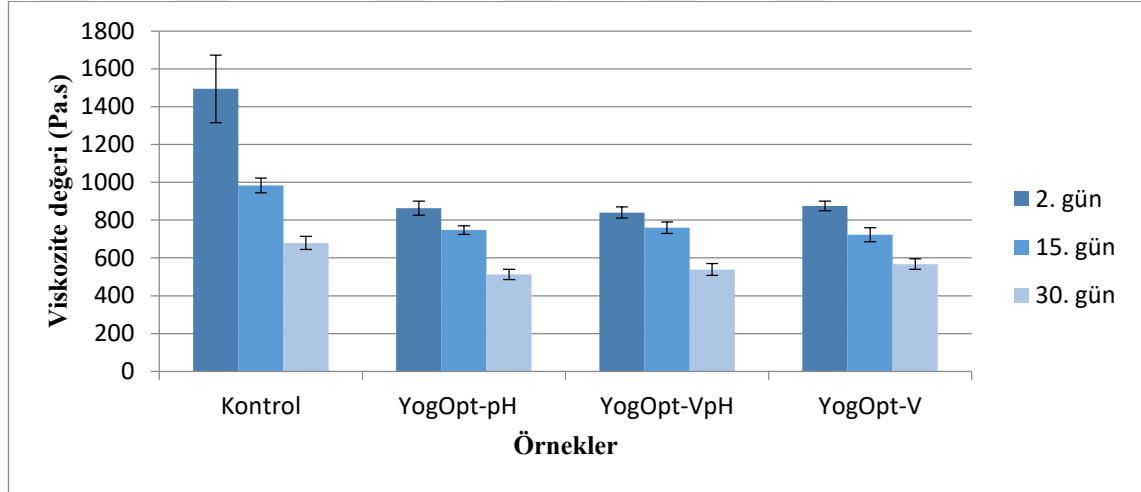
1494.17 Pa.s, 15. gününde 722.50 ile 983.33 Pa.s ve 30. gün sonunda ise 512.50 ile 679.17 Pa.s arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerlerinin grafiği Şekil 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.31. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerleri (Pa.s) değerleri

Örnek çeşidi	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol**	1494.17±178.33*	983.33±38.33	679.17±35.00
Yog _{Opt-pH}	862.50±37.50	747.50±22.50	512.50±27.50
Yog _{Opt-VpH}	840.00±30.00	760.00±30.00	538.36±31.64
Yog _{Opt-V}	874.50±25.50	722.50±37.50	567.08±27.97

*Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.13. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerleri

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin viskozite değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarının (ürün çeşidi ve depolama süresi) örneklerin viskozite (Pa.s) değerleri üzerinde $P < 0.001$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen viskozite değerlerine (Pa.s) ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Viskozite değeri (Pa.s)		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	171906.68	29.69***
Depolama (D)	2	393546.49	67.97***
ÜxD	6	35139.84	6.07*

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

*İstatistiksel olarak $P<0.05$ düzeyinde önemli ***İstatistiksel olarak $P<0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.33'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ürün çeşidine bağlı olarak yoğurt örneklerinin viskozite değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değiştiği ve depolama süresinin artışına bağlı olarak yoğurt örneklerinin viskozite değerlerinde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.33. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen viskozite (Pa.s) değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	Viskozite değeri (Pa.s)
Kontrol**	1052.22±352.95 a*
Yog _{Opt-pH}	707.50±148.68 b
Yog _{Opt-VpH}	709.15±131.20 b
Yog _{Opt-V}	712.79±129.21 b
Depolama	
2. gün	1017.79±289.48 a
15. gün	803.33±109.78 b
30. gün	574.28±70.57 c

* Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

** Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurdun viskozitesi, hem duyuşal özellikleri hem de stabilitesi üzerine etki etmektedir. *Bifidobacterium breve* bakterisinin pektin çözeltisi ile kapsüllendikten sonra yoğurt içerisine ilave edildiği bir çalışmada 4°C'de 7 günlük depolama süresince en düşük viskozite değeri kapsüle bakteri ilave edilen yoğurt örneğinde belirlenmiştir. Serbest formda bakteri içeren yoğurt örneğinin viskozite değerleri depolamanın 1. ve 7. günlerinde sırasıyla yaklaşık 3100 ve 5500 cP, kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneklerindeki viskozite değerleri ise depolamanın 1. ve 7. günlerinde sırasıyla yaklaşık 2236 ve 4000 cP olarak belirlenmiştir (Li vd. 2019).

Probiyotik bakteri karışımının (*L. acidophilus* LA-5 ve *B. lactis* BB-12) peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile kapsüllendikten sonra yoğurda ilave edildiği bir çalışmada, 4°C'de 21 günlük depolama süresince tüm örneklerin viskozite değerlerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P<0.05$) azaldığı ve depolama boyunca en yüksek

viskozite değerinin kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneğinde gözlemlendiği belirlenmiştir. Kapsüle probiyotik bakteri ilave edilmeyen yoğurt örneğinde depolamanın 1. ve 28. günlerinde viskozite değerleri sırasıyla ortalama 2413 ve 2025 cP, kapsüle probiyotik bakteri ilavesi yapılan yoğurt örneğinin viskozite değeri ise depolamanın 1. ve 28. günlerinde sırasıyla 1293 ve 1050 cP olarak belirlenmiştir. Depolama boyunca yoğurt örneklerinin viskozite değerlerindeki düşüşün, yoğurta meydana gelen asitlik artışından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca yoğurda fermantasyon işlemi sonunda eklenen kapsüle probiyotik bakterisinin laktik asit üretimini arttırabileceği ve bu sebeple proteinlerin stabilitelerinin bozularak yoğurta viskozite değerinin düşmesine neden olabileceği değerlendirilmiştir (Ajlouni 2021).

Yoğurdun viskozitesi miseller arası bağların gücü, sayısı, yapısı ve konumundan doğrudan etkilenmektedir. Kapsülasyonda kullanılan bileşenlerin yoğurdun misel yapısını bozabileceği ve bunun sonucunda yoğurt viskozitenin azalabileceği bildirilmektedir (El vd. 2018).

4.2.2.6. Yoğurt örneklerine ait sertlik değerleri

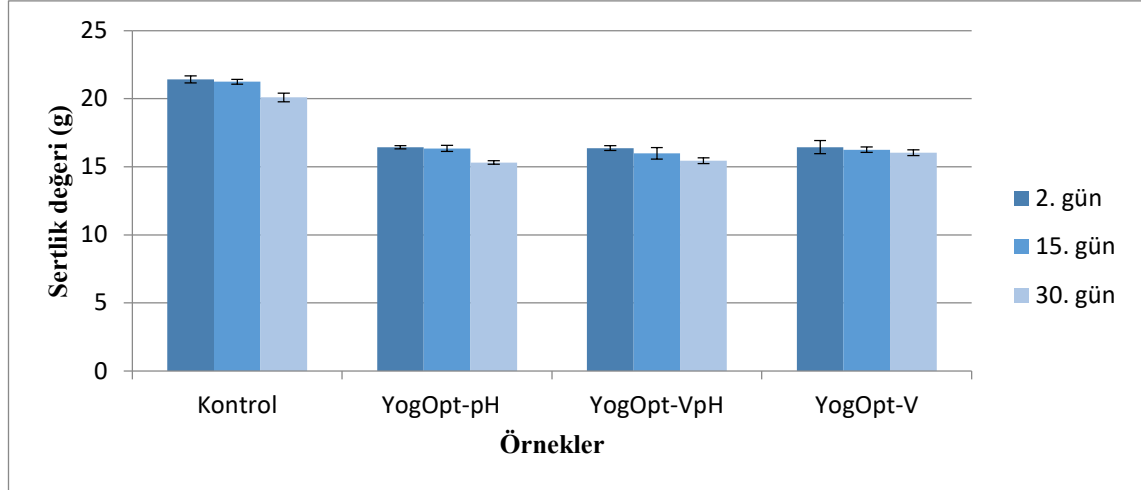
Yoğurt örneklerinde ait sertlik değerleri Çizelge 4.34’de verilmiştir. Örneklerle ait ortalama sertlik değerleri depolamanın ikinci gününde 16.37 ile 21.42 g, 15. gününde 15.98 ile 21.24 g ve 30. gününde 15.31 ile 20.09 g arasında değiştiği belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik analizi değerleri Şekil 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.34. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik analizi değerleri (g) değerleri

Örnek çeşidi	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol**	21.42±0.26*	21.24±0.18	20.09±0.31
Yog _{Opt-pH}	16.43±0.12	16.34±0.22	15.31±0.13
Yog _{Opt-VpH}	16.37±0.18	15.98±0.42	15.44±0.22
Yog _{Opt-V}	16.44±0.48	16.25±0.20	16.04±0.21

*Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.

** Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.14. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik değerleri

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin sertlik değerlerinin istatistiksel analizi sonucunda, ana varyasyon kaynaklarının (ürün çeşidi ve depolama zamanı) örneklerin sertlik değerleri üzerinde istatistiksel olarak $P < 0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen sertlik değerlerine (g) ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Sertlik değeri (g)		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	36.07	2009.67***
Depolama (D)	2	1.65	92.08***
ÜxD	6	0.28	11.90***

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

***İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.36'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ürün çeşidine bağlı olarak yoğurt örneklerinin sertlik değerlerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde değiştiği, depolamanın 2. ve 15. günlerinde yoğurt örneklerinin sertlik değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı, depolamanın 30. günde ise yoğurt örneklerinin sertlik değerlerinin, depolamanın 15. günündeki değerler ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. Yoğurt örneklerinde depolama boyunca belirlenen sertlik (g) değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	Sertlik değeri (g)
Kontrol ^{**}	20.92±0.65 a [*]
Yog _{Opt-pH}	16.02±0.53 b
Yog _{Opt-VpH}	15.93±0.48 b
Yog _{Opt-V}	16.09±0.20 b
Depolama	
2. gün	17.55±2.25 a
15. gün	17.45±2.21 a
30. gün	16.72±1.98 b

^{*} Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

^{**} Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Bifidobacterium breve bakterisinin pektin çözeltisi ile kapsüllenenek yoğurt örneğine ilave edildiği bir çalışmada 4°C’de 7 günlük depolama süresince serbest formda bakteri içeren yoğurt örneğinin sertlik değerinin kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneğine göre istatistiksel olarak önemli derecede ($P<0.01$) yüksek olduğu belirlenmiştir. Serbest formda bakteri içeren yoğurt örneğinin sertlik değerinin depolamanın 1. ve 7. günlerinde sırasıyla yaklaşık 160 ve 225 g olduğu saptanmış, kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneğinin sertlik değerinin ise yaklaşık 60 g olduğu ve depolama süresince değişmediği belirlenmiştir (Li vd. 2019).

Bifidobacterium bifidum F-35 bakterisinin peyniraltı suyu proteini izolatu ve transglutaminaz enzimi ile kapsüllendikten sonra yoğurt içerisine ilave edildiği bir çalışmada, örneklerin sertlik değerlerinin 4°C’de 14 gün süresince kademeli olarak arttığı ortaya konmuştur. *B. bifidum* F-35 ilavesi yapılmayan yoğurt örneğinin sertlik değerleri depolamanın 1. ve 14. günlerinde sırasıyla ortalama 144 ve 167 g, kapsüle formda bakteri *Bifidobacterium bifidum* F-35 içeren yoğurt örneklerinin sertlik değerleri ise sırasıyla ortalama 110 ve 118 g olarak tespit edilmiştir. Kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneklerinin sertlik değerinin kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneğine kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede ($P<0.05$) düşük olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, kapsüle formda bakteri içeren yoğurt örneğinin sertlik değerinin daha düşük olmasının jel yapısında meydana gelen post asidifikasyondan kaynaklanabileceğini değerlendirmişlerdir. Ayrıca laktik asit bakterilerinin gösterdiği protolitik aktivitenin protein ağında meydana getirdiği iyonik değişikliklerin yoğurdun sertlik değerlerini düşürebileceği bildirilmiştir (Mousa vd. 2014). Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda yoğurt örneklerine ait sertlik değerleri ile ilgili sonuçların genel olarak çalışmamızla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

4.2.2.7. Yoğurt örneklerine ait mikrobiyoloji değerleri

S. thermophilus sayısı

Depolama süresince yoğurt örneklerinin dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçişi sırasında belirlenen *S. thermophilus* sayıları Çizelge 4.37’de verilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda yoğurt örneklerinde 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda belirlenen ortalama *S. thermophilus* sayısının kontrol örneğinde 7.55-8.78 log kob/g arasında, Yog_{Opt-pH} örneğinde 7.56-8.85 log kob/g, Yog_{Opt-VpH} örneğinde 7.58-8.83 log kob/g ve Yog_{Opt-V} örneğinde 7.63-8.86 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Söz konusu örneklerde depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sonrasında belirlenen ortalama *S. thermophilus* sayısının Yog_{Opt-pH} örneğinde 6.24-7.22 log kob/g, Yog_{Opt-VpH} örneğinde 6.19-7.21 log kob/g ve Yog_{Opt-V} örneğinde 6.19-7.19 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiş, kontrol örneğinde ise *S. thermophilus* tespit edilememiştir.

Çizelge 4.37. Dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçişi süresince yoğurt örneklerinde bulunan *S. thermophilus*'a ait sayım sayıları (log kob/g)

Örnek çeşidi*	Süre (dk)**	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol	0	8.78±0.04***	8.72±0.06	7.55±0.10
Ağız	2	8.68±0.04	8.60±0.06	7.50±0.10
M-1	60	8.08±0.17	7.78±0.04	6.63±0.02
M-2	120	t.e****	t.e****	t.e****
B-1	180	t.e****	t.e****	t.e****
B-2	240	t.e****	t.e****	t.e****
Yog _{Opt-pH}	0	8.85±0.01	8.78±0.01	7.56±0.01
Ağız	2	8.81±0.11	8.69±0.11	7.53±0.17
M-1	60	8.68±0.01	8.65±0.05	7.35±0.05
M-2	120	7.25±0.15	6.80±0.10	6.20±0.20
B-1	180	7.22±0.01	6.81±0.19	6.21±0.14
B-2	240	7.22±0.38	6.84±0.16	6.24±0.36
Yog _{Opt-VpH}	0	8.83±0.01	8.75±0.04	7.58±0.06
Ağız	2	8.80±0.20	8.64±0.12	7.47±0.02
M-1	60	8.69±0.21	8.60±0.01	7.39±0.01
M-2	120	7.24±0.02	6.77±0.02	6.25±0.02
B-1	180	7.20±0.20	6.76±0.11	6.17±0.20
B-2	240	7.21±0.20	6.78±0.02	6.19±0.20
Yog _{Opt-v}	0	8.86±0.02	8.83±0.05	7.63±0.01
Ağız	2	8.81±0.19	8.69±0.30	7.56±0.05
M-1	60	8.58±0.03	8.45±0.23	7.52±0.01
M-2	120	7.13±0.03	6.80±0.10	6.20±0.01
B-1	180	7.13±0.01	6.89±0.10	6.19±0.16
B-2	240	7.19±0.01	6.88±0.01	6.19±0.01

*Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-v}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Ağız: ağız bölgesi sonu, M-1: mide bölgesinde birinci saatin sonu, M-2: mide bölgesinde ikinci saatin sonu, B-1: ince bağırsak bölgesinde birinci saatin sonu, B-2: ince bağırsak bölgesinde ikinci saatin sonu olmak üzere örnekleme noktalarını temsil etmektedir.

**Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemden geçiş süresi

*** ortalama değer ± standart sapma

**** t.e.: örneklerde *S. thermophilus* tespit edilemedi.

Mikrobiyolojik analizlerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarından örnek çeşidi, gastrointestinal sistem ve depolama zamanının *S. thermophilus* sayısı üzerine $P<0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. Depolama süresince dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen *S. thermophilus*'un sayım sonuçlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	<i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ö)	3	132.95	20924.1***
Gastrointestinal sistem (G)	4	69.98	11013.4***
Depolama zamanı (D)	2	10.08	1586.84***
ÖxG	12	18.27	2875.47***
ÖxD	6	0.22	35.52***
GxD	8	0.29	45.72***
ÖxGxD	24	0.05	8.79***

*İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerinde belirlenen *S. thermophilus* sayılarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.39); kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerine kıyasla kontrol grubu yoğurt örneklerinde *S. thermophilus* sayısının istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu, *S. thermophilus* sayısının mide bölgesinde 120. dakika sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı, gastrointestinal sistemin sonraki aşamalarında yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* sayısındaki değişimin önemli olmadığı ($P > 0.05$) saptanmıştır. Yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerinin eklendiği yoğurt örneklerindeki *S. thermophilus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P > 0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca yoğurt örneklerindeki ortalama *S. thermophilus* sayısının depolama süresince azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.39. Depolama süresince dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen *S. thermophilus* sayım sonuçlarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Örnek çeşidi*	<i>S. thermophilus</i> sayısı (log kob/g)
Kontrol	3.15±3.88 b**
Yog _{Opt-pH}	7.37±0.92 a
Yog _{Opt-VpH}	7.34±0.91 a
Yog _{Opt-V}	7.37±0.88 a
Gastrointestinal sistem	
Ağız	8.32±0.58 a
M-1	8.03±0.57 b
M-2	5.05±3.00 c
B-1	5.05±2.94 c
B-2	5.09±2.97 c
Depolama zamanı	
2.gün	6.69±2.90 a
15.gün	6.49±2.84 b
30.gün	5.74±2.48 c

* Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Ağız: ağız bölgesi sonu, M-1: mide bölgesinde birinci saatin sonu, M-2: mide bölgesinde ikinci saatin sonu, B-1: ince bağırsak bölgesinde birinci saatin sonu, B-2: ince bağırsak bölgesinde ikinci saatin sonu olmak üzere örnekleme noktalarını temsil etmektedir.

olmak üzere örnekleme noktalarını temsil etmektedir.

** Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

***L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı**

Yoğurt örneklerinde ait ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısına ait sonuçlar Çizelge 4.40'da verilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda yoğurt örneklerinin 30 günlük depolama süresince üç farklı zamanda belirlenen ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının kontrol örneğinde 7.05-8.23 log kob/g arasında, Yog_{Opt-pH} örneğinde 7.15-8.25 log kob/g, Yog_{Opt-VpH} örneğinde 7.10-8.23 log kob/g ve Yog_{Opt-V} örneğinde 7.12-8.28 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Söz konusu yoğurt örneklerinde depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sonrasında belirlenen ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının Yog_{Opt-pH} örneğinde 6.15-7.10 log kob/g, Yog_{Opt-VpH} örneğinde 6.10-7.09 log kob/g ve Yog_{Opt-V} örneğinde 6.09-7.08 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiş, kontrol örneğinde ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tespit edilememiştir.

Çizelge 4.40. Dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş süresince yoğurt örneklerinde bulunan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'a ait sayım sonuçları (log kob/g)

Örnek çeşidi*	Süre (dk)**	2. gün	15. gün	30. gün
Kontrol	0	8.23±0.03***	8.00±0.01	7.05±0.01
Ağız	2	8.20±0.03	7.94±0.06	7.00±0.20
M-1	60	7.60±0.20	6.90±0.10	6.10±0.01
M-2	120	t.e****	t.e****	t.e****
B-1	180	t.e****	t.e****	t.e****
B-2	240	t.e****	t.e****	t.e****
Yog _{Opt-pH}	0	8.25±0.02	8.17±0.06	7.15±0.00
Ağız	2	8.24±0.02	8.15±0.03	7.15±0.01
M-1	60	8.15±0.15	8.10±0.20	7.03±0.10
M-2	120	7.10±0.03	6.50±0.40	6.10±0.05
B-1	180	7.08±0.01	6.51±0.01	6.11±0.12
B-2	240	7.10±0.30	6.54±0.16	6.15±0.01
Yog _{Opt-VpH}	0	8.23±0.01	8.15±0.08	7.10±0.05
Ağız	2	8.20±0.01	8.15±0.05	7.12±0.02
M-1	60	8.12±0.20	8.09±0.06	7.08±0.12
M-2	120	7.08±0.14	6.45±0.01	6.09±0.29
B-1	180	7.08±0.17	6.44±0.22	6.07±0.16
B-2	240	7.09±0.04	6.49±0.08	6.10±0.05
Yog _{Opt-v}	0	8.28±0.00	8.16±0.06	7.12±0.06
Ağız	2	8.26±0.04	8.16±0.19	7.10±0.02
M-1	60	8.13±0.20	8.08±0.15	7.07±0.13
M-2	120	7.09±0.16	6.50±0.10	6.11±0.02
B-1	180	7.08±0.17	6.50±0.10	6.09±0.00
B-2	240	7.08±0.01	6.51±0.12	6.09±0.11

* Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-v}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Ağız: ağız bölgesi sonu, M-1: mide bölgesinde birinci saatin sonu, M-2: mide bölgesinde ikinci saatin sonu, B-1: ince bağırsak bölgesinde birinci saatin sonu, B-2: ince bağırsak bölgesinde ikinci saatin sonu olmak üzere örnekleme noktalarını temsil etmektedir.

**Dinamik *in vitro* gastrointestinal sistemden geçiş süresi

*** ortalama değer ± standart sapma

**** t.e.: örneklerde *S. thermophilus* tespit edilemedi.

Mikrobiyolojik analizlerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, incelenen ana varyasyon kaynaklarının (örnek çeşidi, gastrointestinal sistem ve depolama zamanı) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısı üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak $P<0.001$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41. Depolama süresince dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un sayım sonuçlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)		
	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ö)	3	128.49	24816.5***
Gastrointestinal sistem (G)	4	54.66	10556.6***
Depolama zamanı (D)	2	8.39	1619.93***
ÖxG	12	16.60	3205.78***
ÖxD	6	0.15	29.25***
GxD	8	0.30	57.32***
ÖxGxD	24	0.07	13.60***

*İstatistiksel olarak $P<0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerinde belirlenen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayılarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.42); kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerine kıyasla kontrol grubu yoğurt örneklerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının mide bölgesinde 120. dakika sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerinin eklendiği yoğurt örneklerindeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca yoğurt örneklerindeki ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının depolama süresince azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.42. Depolama süresince dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş sırasında yoğurt örneklerinde belirlenen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayım sonuçlarına ait ortalama Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Örnek çeşidi*	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> sayısı (log kob/g)***
Kontrol	2.91±3.60 b**
Yog _{Opt-pH}	7.06±0.76 a
Yog _{Opt-VpH}	7.04±0.77 a
Yog _{Opt-V}	7.06±0.76 a
Gastrointestinal sistem	
Ağız	7.80±0.51 a
M-1	7.54±0.51 b
M-2	4.92±2.90 c
B-1	4.91±2.86 c
B-2	4.93±2.87 c
Depolama zamanı	
2.gün	6.43± 2.75 a
15.gün	6.10±2.66 b
30.gün	5.53±2.37 c

* Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Ağız: ağız bölgesi sonu, M-1: mide bölgesinde birinci saatin sonu, M-2: mide bölgesinde ikinci saatin sonu, B-1: ince bağırsak bölgesinde birinci saatin sonu, B-2: ince bağırsak bölgesinde ikinci saatin sonu olmak üzere örnekleme noktalarını temsil etmektedir.

** Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$).

***ortalama değer ± standart sapma

Yararlı mikroorganizmaların konakçıda olumlu etki oluşturabilmesi için tüketim anında üründe yeterli sayıda canlı olarak bulunarak konakçının kalın bağırsağına ulaşması gerekmektedir. Picot ve Lacroix (2004) yaptıkları çalışmada, *Bifidobacterium breve* R070 ve *Bifidobacterium longum* R023 bakterilerini ağırlıkça %10 denatüre peyniraltı suyu proteini içeren çözeltiyi kullanarak püskürterek kurutma tekniği ile kapsüllemişlerdir. BB R070 ve BL R023'nin kapsüle ve serbest formlarından sırasıyla $5-6 \times 10^6$ ve $6-7 \times 10^7$ kob/mL olacak şekilde ilave edilen yoğurt örnekleri 4°C'de 28 gün süresince depolanmıştır. Serbest ve kapsüle formlardaki probiyotik bakterilerin sayıları yoğurt örneklerinin 37°C'deki simüle edilmiş mide sıvısı (pH 1.9) ve simüle ince bağırsak sıvısına (pH 7.5) maruz bırakılmasının ardından belirlenmiştir. Serbest ve kapsüle formlarda *Bifidobacterium breve* ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde depolamanın ilk gününde *Bifidobacterium breve* sayısının yaklaşık olarak sırasıyla 8 ve 7 log kob/g, serbest ve kapsül formlarda *Bifidobacterium longum* ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde depolamanın ilk gününde *Bifidobacterium longum* sayısının ise yaklaşık olarak sırasıyla 8 ve 4 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Serbest ve kapsüle formlarda *Bifidobacterium breve* ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde depolamanın 28. gününde *Bifidobacterium breve* sayısının yaklaşık olarak sırasıyla 3 ve 4 log kob/g, serbest ve kapsül formlarda *Bifidobacterium longum* ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde

depolamanın 28. gününde *Bifidobacterium longum* sayısının ise yaklaşık olarak sırasıyla 1 ve 1 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Gastrointestinal sistem koşullarında yoğurtlardaki probiyotik bakteri canlılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar neticesinde; serbest ve kapsüle formlarda *Bifidobacterium breve* ilavesi yapılan yoğurt örneklerindeki *Bifidobacterium breve* sayısının mide sıvısında 30 dakika bekletme sonunda sırasıyla 2 ve 1 log kob/mL, ince bağırsak sıvısında 60 dakika bekletme sonunda sırasıyla 2 ve 5 log kob/mL, ince bağırsak sıvısında 180 dakika bekletme sonunda sırasıyla 3 ve 6 log kob/mL ve ince bağırsak sıvısında 360 dakika bekletme sonunda sırasıyla 5 ve 8 log kob/mL olduğu saptanmıştır. Serbest ve kapsüle formlarda *Bifidobacterium longum* ilavesi yapılan yoğurt örneklerindeki *Bifidobacterium longum* sayısı mide sıvısında 30 dakika bekletme sonunda sırasıyla <1 ve <1 log kob/mL, ince bağırsak sıvısında 60 dakika bekletme sonunda sırasıyla <1 ve 1 log kob/mL, ince bağırsak sıvısında 180 dakika bekletme sonunda sırasıyla <1 ve 2 log kob/mL ve ince bağırsak sıvısında 360 dakika bekletme sonunda sırasıyla 1 ve 4 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Pankreatin ve safra tuzları varlığındaki ince bağırsak sıvısında bakteri sayısındaki artış, mide sıvısındaki düşük pH stresi sebebiyle *Bifidobacterium* hücrelerinde yalnızca geçici bir hasarın meydana gelmesi ile açıklanmaktadır. Ayrıca, bağırsak sıvısına maruz kalan hücre sayısındaki artışın sadece hücre çoğalmasından meydana gelmediği ve sayıca çoğalmanın, bozulan kapsüllerden *Bifidobacterium* hücrelerinin salınmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Çalışmada, peyniraltı suyu proteini çözeltisi ile üretilen kapsüllerin, mide ortamında pepsin enziminin hidrolitik etkisine karşı direnç gösterdiği, bağırsak ortamında pankreatik enzimlerin varlığında ise 3 saat içerisinde tamamen açıldığı ortaya koyulmuştur. Ayrıca, kapsülasyon işleminin hücrenin canlılığını koruyarak ince bağırsak ortamında salınmasına olanak sağladığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmadan elde edilen sonuçların, çalışmamızdaki sonuçlar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, sodyum aljinat (%2) çözeltisine %1.5 oranında galaktooligosakkarit ilave edilerek veya ilave edilmeden hazırlanan kaplama çözeltileri ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak kapsüllenen *Lactobacillus acidophilus* 5 ve *Lactobacillus casei* 01 bakterileri kitosan çözeltisi kullanılarak ikinci kez kaplanmıştır. Elde edilen kapsüle probiyotik bakteriler %10 oranında olacak şekilde yoğurda fermentasyon işleminden tamamlanmasından hemen sonra ilave edilmiş ve yoğurt örnekleri 4°C'de 4 hafta süresince depolanmıştır. Sodyum aljinat içeren çözelti ile üretilen kapsüle *L. acidophilus* 5'i içeren yoğurt örneklerindeki *L. acidophilus* sayısının depolamanın 1. günü ile 1., 2., 3. ve 4. haftalarında sırasıyla ortalama 10.1, 7.5, 7.3, 7.9 ve 7.4 log kob/g; galaktooligosakkarit ilavesi yapılan çözelti ile üretilen kapsüle *L. acidophilus* 5'i içeren yoğurt örneğinde ise *L. acidophilus* sayısının sırasıyla ortalama 10.3, 9.8, 7.9, 8.1 ve 8.5 log kob/g olduğu belirlenmiştir. Sodyum aljinat içeren çözelti ile üretilen kapsüle *L. casei* 01'i içeren yoğurt örneklerindeki *L. casei* sayısının depolamanın 1. günü ile 1., 2., 3. ve 4. haftalarında sırasıyla ortalama 9.5, 9.6, 7.8, 8.1 ve 7.9 log kob/g; galaktooligosakkarit ilavesi yapılan çözelti ile üretilen kapsüle *L. casei* 01'i içeren yoğurt örneğinde ise *L. casei* sayısının sırasıyla ortalama 9.2, 9.1, 8.4, 8.3 ve 8.3 log kob/g olduğu saptanmıştır. Galaktooligosakkarit içeren çözelti ile üretilen kapsüllerin yoğurdun depolanması sırasında probiyotik bakterileri korumada galaktooligosakkarit içermeyen çözeltilerle elde edilen kapsüllere göre daha başarılı olduğu değerlendirilmiştir. Galaktooligosakkarit içeren çözeltiyle üretilen kapsüle *L. acidophilus* 5'i içeren yoğurt örneklerinde *L. acidophilus* sayısının depolamanın ilk iki

haftasında azaldığı, depolamanın 3. haftasından itibaren ise arttığı saptanmış ve bu durumun galaktooligosakkarit ilavesinin hücrenin gelişmesini teşvik etmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Krasaekoopt ve Watcharapoka 2014).

Haghshenas vd. (2015) yaptıkları çalışmada; *Enterococcus durans* 39C bakterisini ekstrüzyon yöntemi ile %1.5 oranında sodyum aljinat, %0.5 oranında karniyarik otu ekstraktı ile %0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 oranlarında inülin ve çemen otu ekstraktı ile hazırladıkları kaplama çözeltilerini kullanarak kapsüllemişlerdir. Kapsüle ve serbest formlardaki *E. durans* 39C yoğurt örneklerine ilave edilmiş ve yoğurt örneklerinin 4°C’de 4 hafta depolanması süresince *E. durans*’ın canlılığı incelenmiştir. Serbest formdaki *E. durans* 39C’i içeren yoğurt örneklerinde depolamanın 1. gününde yaklaşık olarak 10.0 log kob/g seviyesinde bulunan *E. durans* sayısının 28. günün sonunda yaklaşık 4.0 log kob/g’a düştüğü, %1.5 oranında inülin içeren kaplama çözeltilisi kullanılarak elde edilen kapsüle formdaki *E. durans* 39C ilavesi yapılan yoğurt örneklerinde ise depolama sonunda *E. durans* sayısının 10.0 log kob/g’dan 10.3 log kob/g’a yükseldiği tespit edilmiştir. Farklı oranlarda çemen otu ekstraktı kullanılarak üretilen kapsüllerde ise depolamanın birinci gününde 10.0 log kob/g olan *E. durans* sayısının depolama sonunda yaklaşık olarak ortalama 10.3 log kob/g’a yükseldiği belirlenmiştir. Çalışmada kapsül üretiminde prebiyotik ilavesinin yoğurtlardaki *E. durans* 39C canlılığını koruduğu ve arttırdığı saptanmıştır.

Çalışmamız sonucunda elde edilen sonuçların genel olarak diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu, bazı farklılıkların bakteri suşu, kapsülasyon tekniği ve kaplama çözeltilisinin özelliklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2.2.8. Yoğurt örneklerine ait duyuşsal analiz değerleri

Yoğurt örneklerine ait görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanları depolamanın 2., 15. ve 30. günlerinde yapılan duyuşsal analizler sonucunda belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanları ile bu puanların depolama sırasındaki değişimi Çizelge 4.43’de verilmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerine sahip ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerine sahip ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği ve *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğe sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneğinin görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanları ile ilgili grafikler sırasıyla Şekiller 4.15, 4.16, 4.17 ve 4.18’de görülmektedir. Depolama süresince duyuşsal analizi yapılan yoğurt örneklerinin görünüş puanlarının depolamanın ikinci gününde 5.72 ile 7.22 arasında, 15. gününde 5.10 ile 6.40 arasında ve 30. gününde ise 5.00 ile 5.55 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Yoğurt örneklerinin koku puanlarının depolamanın ikinci gününde 6.67 ile 7.31 arasında, 15. gününde 5.27 ile 6.58 arasında ve 30. gününde ise 4.47 ile 5.23 arasında değiştiği saptanmıştır. Depolama süresince duyuşsal analizi yapılan yoğurt örneklerinin tat puanlarının depolamanın ikinci gününde 6.00 ile 7.41 arasında, 15. gününde 6.10 ile 6.80 arasında ve 30. gününde ise 5.76 ile 6.65 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yoğurt örneklerinin genel beğeni puanlarının depolamanın ikinci gününde 7.40 ile 9.00 arasında, 15.

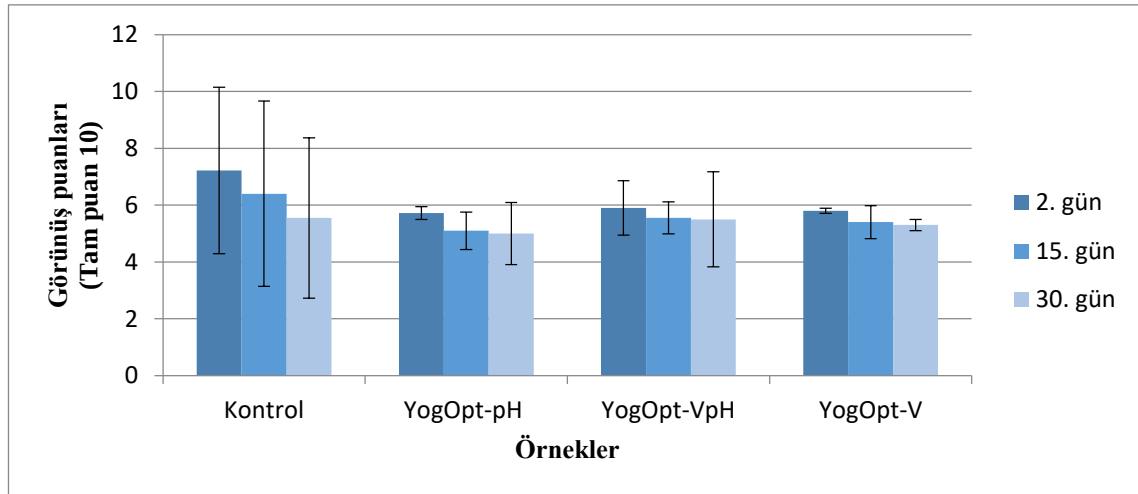
gününde 4.67 ile 4.80 arasında 30. gününde ise 4.15 ile 4.60 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.43. Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanları

Örnek çeşidi*	Depolama zamanı (Gün)	Görünüş (Tam puan 10)	Koku (Tam puan 10)	Tat (Tam puan 10)	Genel beğeni (Tam puan 10)
Kontrol	2	7.22±2.93**	7.31±2.08	7.41±2.56	9.00±2.39
	15	6.40±3.26	6.58±3.33	6.80±2.85	4.67±2.21
	30	5.55±2.82	4.47±3.01	6.65±3.80	4.60±3.67
Yog _{Opt-pH}	2	5.72±0.23	6.70±1.11	6.00±0.81	7.80±0.16
	15	5.10±0.66	5.50±0.21	6.10±0.71	4.80±1.82
	30	5.00±1.09	5.20±2.20	5.80±1.91	4.20±1.19
Yog _{Opt-VpH}	2	5.90±0.96	6.73±1.53	6.05±1.07	7.40±1.57
	15	5.55±0.56	5.53±1.18	6.11±0.63	4.70±0.98
	30	5.50±1.67	5.23±0.09	5.76±2.00	4.15±0.78
Yog _{Opt-V}	2	5.80±0.09	6.67±1.28	6.08±0.57	7.60±1.37
	15	5.40±0.58	5.27±0.10	6.10±1.67	4.80±1.21
	30	5.30±0.20	5.20±0.80	5.80±0.91	4.20±0.42

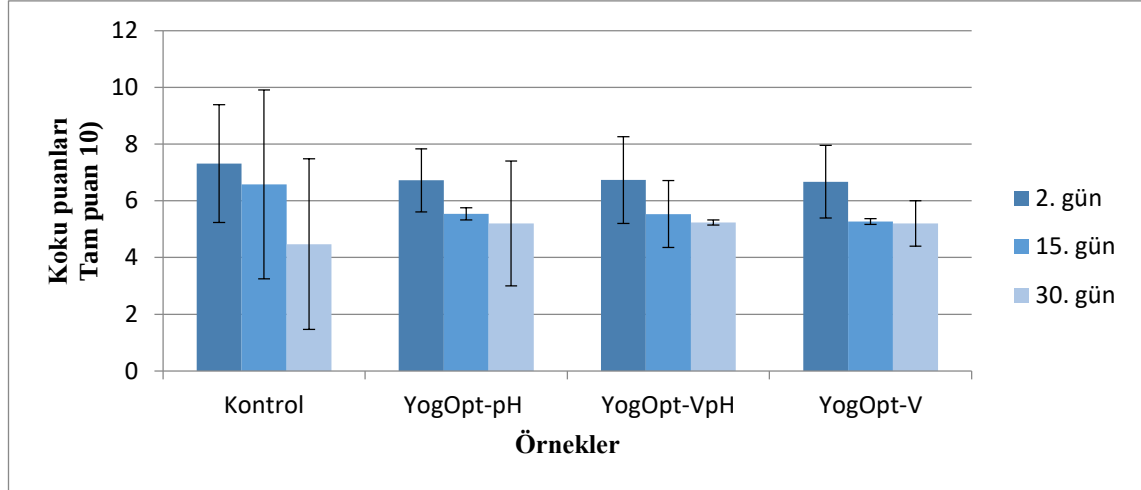
* Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği.

** Sonuçlar ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir.



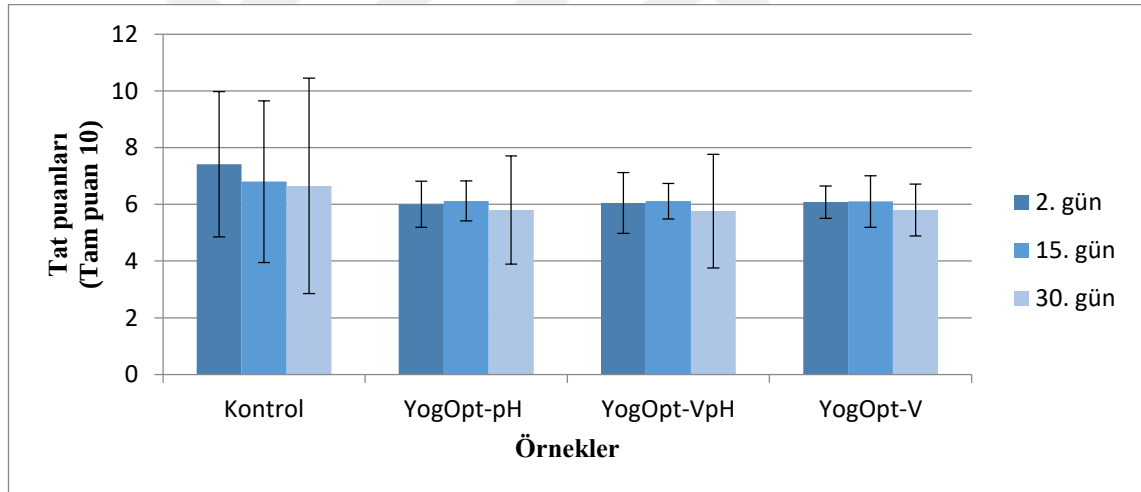
Şekil 4.15. Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş puanları

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



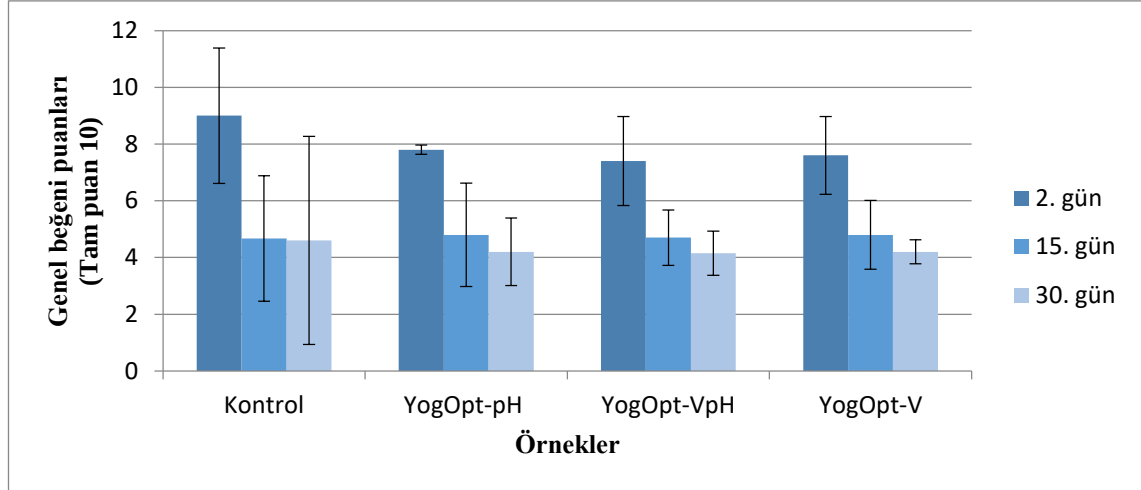
Şekil 4.16. Yoğurt örneklerine ait ortalama koku puanları

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.17. Yoğurt örneklerine ait ortalama tat puanları

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği



Şekil 4.18. Yoğurt örneklerine ait ortalama genel beğeni puanları

Kontrol: Kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, YogOpt-pH: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, YogOpt-VpH: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, YogOpt-V: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

Yoğurt örneklerinin görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanlarının istatistiksel analizi sonucunda incelenen ana varyasyon kaynaklarından örnek çeşidinin istatistiksel olarak yoğurt örneklerin görünüş puanları üzerindeki etkisinin $P < 0.001$ düzeyinde, tat puanları üzerindeki etkisinin $P < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu; örneklerin koku ve genel beğeni puanları üzerindeki etkisinin ise önemli olmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir. Ana varyasyon kaynaklarından depolama zamanının yoğurt örneklerinin görünüş, koku ve genel beğeni puanları üzerinde istatistiksel olarak $P < 0.001$ önem düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir. (Çizelge 4.44 ve 4.45).

Çizelge 4.44. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen görünüş ve koku puanlarına ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Görünüş			Koku		
	S.D.	K.O.	F	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	10.87	6.56***	3	0.89	0.43
Depolama (D)	2	16.69	10.08***	2	35.33	17.09***
ÜxD	6	0.32	0.20	6	2.38	1.15

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

***: İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.45. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen tat ve genel beğeni puanlarına ait ortalama varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Tat			Genel beğeni		
	S.D.	K.O.	F	S.D.	K.O.	F
Örnek çeşidi (Ü)	3	7.17	5.48*	3	2.54	0.55
Depolama (D)	2	1.94	1.48	2	141.10	30.49***
ÜxD	6	0.31	0.24	6	1.48	0.32

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

*İstatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde önemli ***İstatistiksel olarak $P < 0.001$ düzeyinde önemli

Yoğurt örneklerine ait ortalama görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanlarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.46’da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde ana varyasyon kaynaklarından ürün çeşidininine bağlı olarak görünüş ve tat puanlarının istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0.05$) değiştiği, koku ve genel beğeni puanlarında ise önemli bir farklılığın oluşmadığı ($P > 0.05$) saptanmıştır. Depolama zamanının; görünüş, koku ve genel beğeni puanları üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.46. Yoğurt örneklerinde depolama süresince belirlenen görünüş, koku, tat ve genel beğeni puanlarına ait ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Ürün çeşidi	Görünüş	Koku	Tat	Genel beğeni
Kontrol*	6.39±1.80 a**	6.12±1.96 a	6.95±1.54 a	6.09±3.50 a
Yog _{Opt-pH}	4.94±0.82 b	5.80±1.43 a	5.96±1.27 b	5.60±2.01 a
Yog _{Opt-VpH}	5.32±1.17 b	5.83±1.29 a	5.97±0.73 b	5.42±1.83 a
Yog _{Opt-V}	5.40±0.42 b	5.71±1.10 a	5.99±1.16 b	5.53±1.83 a
Depolama				
2. gün	6.51±1.23 a	7.00±1.42 a	6.73±1.33 a	8.30±2.02 a
15. gün	5.87±1.62 a	6.00±1.06 b	6.45±1.23 a	4.72±1.84 b
30. gün	5.02±1.36 b	4.84±1.67 c	6.22±1.62 a	4.39±2.67 b

*Kontrol: kapsül ilavesi yapılmayan yoğurt örneği, Yog_{Opt-pH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-VpH}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği, Yog_{Opt-V}: *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip olan kapsüllerin ilave edildiği yoğurt örneği

**Farklı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$)

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsülasyonunda kullanılan peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranı ile kapsülasyon uygulamasındaki işlem değişkenlerinden olan voltaj ve iğne ucu-toplayıcı plaka arası uzaklık; düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli kapsüllerin, düşük pH değerindeki ortama karşı en dirençli ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüllerin ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğine sahip kapsüllerin üretimi için optimize edilmiştir. Ayrıca *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren ve üç farklı optimum noktada üretilen kapsüller, üretilen yoğurt içerisine ilave edilmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren kapsüllerin ilave edildiği yoğurdun bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Depolama boyunca gerek kapsül ilave edilmeyen kontrol örneğinde gerekse de *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsülleri ilave edilen yoğurt örneklerindeki yoğurt bakterilerinin canlılığı; ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerini simüle eden dinamik *in vitro* gastrointestinal sistem kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda sunulmuştur:

Kapsülasyon işlemini gerçekleştirmek amacıyla hazırlanan *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini içeren kaplama çözeltilerindeki elektriksel iletkenlik değerinin, kaplama çözeltilisinin içerdiği peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Kaplama çözeltilisinin viskozite değerinin ise içeriğinde peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artmasına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir.

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren kapsüllerin *S. thermophilus*'un canlılığı üzerinden hesaplanan kapsül yükleme verimliliklerinin %94.74 ile 99.80 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. İğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin ve kaplama çözeltilisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışıyla beraber kapsül yükleme verimliliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Kapsülasyon işleminde uygulanan voltaj değerindeki artışın ise kapsül yükleme verimliliğini artırdığı belirlenmiştir.

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren kapsüllerin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un canlılığı üzerinden hesaplanan kapsül yükleme verimliliklerinin %61.05 ile 89.03 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. İğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 10 cm olduğu noktadaki kapsül yükleme verimliliğinin, 8 ve 12 cm olduğu noktalara göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kaplama çözeltilisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artmasıyla beraber kapsül yükleme verimliliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Kapsülasyon sırasında uygulanan voltaj değerinin 20 kV olduğu noktadaki kapsül yükleme verimliliğinin, 16 ve 24 kV olduğu noktalara göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Düşük pH değerine maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının 7.08 log kob/g ile 9.07 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. İğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 8 ve 12 cm olduğu noktalarda üretilen ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının, iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 10 cm olduğu noktada üretilen kapsüllerdekine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Kaplama çözeltilisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin

oranının artmasına bağlı olarak pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* canlılığının daha yüksek düzeyde korunduğu tespit edilmiştir. Kapsülasyon işlemi sırasında uygulanan voltaj değerinin 20 kV olduğu noktalarda üretilen ve pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *S. thermophilus* sayısının, voltaj değerinin 16 ve 24 kV olduğu noktada üretilen kapsüllerdekine göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Düşük pH değerine maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının 6.20 log kob/g ile 7.63 log kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Kapsül üretimi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklık değerlerinin, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüldeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında önemli bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Kaplama çözeltisindeki peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artmasıyla, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Kapsülasyon işlemi sırasında uygulanan voltaj değerinin artmasıyla, pH değeri 2.5 olan ortama maruz bırakılan kapsüllerdeki *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* canlılığının daha yüksek düzeyde korunduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kapsülasyon işlemi sırasında iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin ve peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının artışıyla kapsüllerin çevre uzunluk değerinin azaldığı, kapsülasyonda uygulanan voltaj değerinin artışıyla ise kapsüllerin çevre uzunluk değerinin arttığı saptanmıştır.

Optimizasyon sonucunda elde edilen kapsüllerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi sonuçları değerlendirildiğinde, kapsüllerin kızılötesi spektrumlarının 4000-650 cm^{-1} arasında olduğu tespit edilmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren kapsüllerinin karakteristik özellikleri 3272-3277, 2926-2930, 1531-1538, 1452-1454, 1394-1398, 1242-1247, 1028-1081, 933-937, 694-700 cm^{-1} 'de saptanmıştır.

Elde edilen kapsüllerin Diferansiyel Taramalı Kalorimetre analiz sonuçları değerlendirildiğinde, kapsüllerin endotermik tepe sıcaklığı (erime sıcaklığı) değerleri 100-200°C aralığındayken, ekzotermik tepe sıcaklıkları 200-350°C aralığında tespit edilmiştir.

Kapsül yükleme verimlilik değeri en yüksek olan kapsüllerin üretilmesi için peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının 16/8, voltaj değerinin 19.60 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 8.00 cm olduğu noktalar; pH değeri 2.5 olan ortamda en yüksek *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısına sahip kapsüllerin üretilmesi amacıyla peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının 23.84/1.16, voltaj değerinin 10.01 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 16.82 cm olduğu noktalar; düşük pH değerindeki ortamda karşı en yüksek *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısına ve en yüksek kapsül yükleme verimliliğe sahip kapsüllerinin üretilmesi için peyniraltı suyu proteini izolatu/inülin oranının 16/8, voltaj değerinin 22.07 kV ve iğne ucu-plaka arası uzaklık değerinin 8.00 cm olduğu noktalar optimum olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u içeren kapsüllerde optimizasyon cevabı için gerçekleştirilen doğrulama denemelerinin sonuçlarının modelden tahminlenen değere oldukça yakın olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Yoğurt örneklerine ait ortalama kurumadde (%), yağ (%), protein (%) ve kül (%) miktarlarının, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilen kriterler ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Yoğurt örneklerine ait pH değerleri incelendiğinde, ürün çeşidi değişimine bağlı olarak pH değerlerinin farklılık gösterdiği ve kontrol örneğinin depolama boyunca ortalama pH değerinin, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerine kıyasla düşük olduğu belirlenmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Depolama süresinin artışına bağlı olarak yoğurt örneklerinde pH değerinin azaldığı tespit edilmiştir.

Yoğurt örneklerine ait titrasyon asitliği değerleri değerlendirildiğinde, depolama boyunca kontrol örneğinde titrasyon asitliği değerinin kapsül ilave edilmiş yoğurt örneklerine göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin arttığı belirlenmiştir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır.

Yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Örneklerin serum ayrılması değerlerinin depolamanın 30. gününde istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

S. thermophilus ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içermeyen kontrol yoğurt örneğinin viskozite değerinin, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerine göre yüksek olduğu, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerinin viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Yoğurt örneklerine ait ortalama viskozite değerlerinde depolama süresinin artışına bağlı olarak azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Kontrol yoğurt örneğinin sertlik değerinin, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerine göre yüksek olduğu, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kapsüllerini içeren yoğurt örneklerinin sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Yoğurt örneklerine ait ortalama sertlik değerlerinin depolama süresince azaldığı tespit edilmiştir.

Depolama süresince yoğurt örneklerinin dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçişi sırasında belirlenen *S. thermophilus* sayıları incelendiğinde; kapsül ilavesi yapılan yoğurt örneklerine kıyasla kontrol grubu yoğurt örneklerinde *S. thermophilus* sayısının istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu, *S. thermophilus* sayısının mide ortamında 120. dakika sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Ayrıca yoğurt örneklerindeki ortalama *S. thermophilus* sayısının depolama zamanına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*'un dinamik *in vitro* gastrointestinal modelden geçiş süresince belirlenen sayım sonuçları incelendiğinde; *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının örnek çeşidine bağlı olarak değiştiği ve gastrointestinal sistemden geçiş sürecinde önemli düzeyde farklılık gösterdiği saptanmıştır. En düşük ve en yüksek *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısının sırasıyla kontrol ve Yog_{Opt-pH} örneklerinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresinin artışına bağlı olarak yoğurt örneklerindeki ortalama *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında azalma tespit edilmiştir.

Yoğurt örneklerine ait duyu analizi değerleri incelendiğinde, ana varyasyon kaynaklarından ürün çeşidine bağlı olarak görünüş ve tat puanlarının istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P<0.05$) değiştiği, koku ve genel beğeni puanlarında ise önemli bir farklılığın oluşmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Depolama zamanının; görünüş, koku ve genel beğeni puanları üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde, yoğurt bakterilerini içeren kapsüllerin üretiminde kullanılacak yoğurdun fonksiyonel özelliğini arttırabileceği ortaya konmuştur. Bundan sonraki süreçte, farklı teknikler ile kapsüllenen yoğurt bakterilerinin kapsül özelliklerinin belirlenmesi, yoğurt üretiminde kullanılması ve yoğurt bakterilerinin canlılığı açısından kapsülasyon tekniklerinin karşılaştırılması üzerinde çalışılabileceği değerlendirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Adhikari, K., Mustapha, A., Grün, I. U., Fernando, L. 2000. *Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. Journal of Dairy Science*, 83(9): 1946-1951.
- Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M. U., Nadeem, M. T., Saeed, M., Tufail, T. 2019. *The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11: 1348-1354.
- Ajlouni, S. 2021. *Encapsulation increases the in vitro bioaccessibility of probiotics in yoghurt. International Journal of Dairy Technology*, 74(1): 118-127.
- Akbulut, N. ve Karagözlü, C. 2014. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi* (2. Baskı). İzmir: Sidas Medya.
- Albers, R., Antoine, J. M., Bourdet-Sicard, R., Calder, P. C., Gleeson, M., Lesourd, B., Samartín, S., Sanderson, I. R., Van Loo, J., Vas Dias, F. W., Watzl, B. 2005. *Markers to measure immunomodulation in human nutrition intervention studies. British Journal of Nutrition*, 94(3): 452-481.
- Alehosseini, A., Sarabi-Jamab, M., Ghorani B., Kadkhodae, R. 2019. *Electro-encapsulation of Lactobacillus casei in high-resistant capsules of whey protein containing transglutaminase enzyme. LWT - Food Science and Technology*, 102: 150-158.
- Alkhatib, A. 2020. *Antiviral functional foods and exercise lifestyle prevention of coronavirus. Nutrients*, 12(2633): 1-16.
- Almasi, H., Azizi, S., Amjadi, S. 2020. *Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (Origanum majorana L.) essential oil. Food Hydrocolloids*, 99: 1-13.
- Amatayakul, T., Sherkat, F., Shah, N. P. 2016. *Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. International Journal of Dairy Technology*, 59 (3): 216-221.
- Amin Miri, M., Movaffagh, J., Habibi Najafi, M. B., Najaf Najafi, M., Ghorani, B., Koocheki, A. 2016. *Optimization of elecrosinning process of zein using central composite design. Fibers and Polymers*, 17(5): 769-777.
- Anonim. 1995. TS 8189 Sütte Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 10ss, Ankara.
- Anonim. 2002. TS 1018 İnek Sütü-Çiğ Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, 14ss, Ankara.
- Anonim. 2009. Türk Gıda Kodeksi- Fermente Süt Ürünleri Tebliği. T.C Resmi Gazete 16.02.2009 tarih ve 27143 sayı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara.
- Anonim. 2019. Ulusal Süt Konseyi. Beslenmede sütün önemi. http://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/42013_02_27_733421.doc. Son erişim tarihi: 29.09.2019.

- Anonim. 2020. Ulusal Süt Konseyi. 2019 Süt Raporu. Ulusal Süt Konseyi. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/ulusal-sut-konseyi-sut-raporu-2019-2903/> Son erişim tarihi: 22.01.2021.
- Anonymous. 1986. Milk determination of nitrogen (kjeldahl method) and calculation of crude protein content. International Dairy Federation Standard 20A, Belgium
- Anonymous. 1991. Yogurt-determination of titratable acidity. International Dairy Federation Standard 150, Belgium
- Anonymous. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. <http://pc.ilele.hk/public/pdf/20190225/bd3689dfc2fd663bb36def1b672ce0a4.pdf> [Son erişim tarihi: 16.02.2021].
- Ariful, I.M., Heui Yun, C., Jaie Choi, Y., Su Cho, C. 2010. *Microencapsulation of live probiotic bacteria. Journal of Microbiology and Biotechnology*, (10): 1367–1377.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N. 2010. *Inulin - a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. Journal of Excipients and Food Chemicals*, 1(3): 27-50.
- Bodyfelt, F. W., Tobias, J., Trout, G. M. 1988. The Sensory Evaluation of Dairy products. New York, USA: Van Nostrand Reinhold.
- Bottari, B., Castellone, V., Neviani, E. 2020. Probiotics and COVID-19. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(3): 293-299.
- Botrel, D. A., Fernandes, R. V. D. B., Borges, S. V., Yoshida, M. I. 2014. *Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. Food Research International*, 62: 344–352.
- Brown-Bojorquez, F., Paz-Samaniego, R., Carvajal-Millan, E., Pedroza-Montero, M., Silva-Campa, E., Lizardi-Mendoza, J., Sotelo-Cruz, N., Yolanda, L. L. 2018. *Electrospray-assisted fabrication of core-shell arabinoxylan gel particles for insulin and probiotics entrapment. Journal of Applied Polymer Science*, 135(26): 1–10.
- Brushani, J. S., Anandharamakrishnan, C. 2014. *Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications. Trends in Food Science & Technology*, 38(1): 21-33.
- Budhwar, S. 2020. *A rapid advice guideline for the prevention of novel coronavirus through nutritional intervention. Current Nutrition Reports*, 9: 119–128.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. 2011. *Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. Journal of Food Engineering*, 104(4): 467–483.
- Burgain, J., Gaiani, C., Cailliez-Grimal, C., Jeandel, C., Scher, J. 2013. *Encapsulation of Lactobacillus rhamnosus GG in microparticles: influence of casein to whey protein ratio on bacterial survival during digestion. Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19: 233-242.

- Caces, E. V., Frutos, M. A. 2015. *Effect of different types of encapsulation on the survival of Lactobacillus plantarum during storage with inulin and in vitro digestion*. *LWT - Food Science and Technology*, 64: 824-828.
- Cardenas, D., Bermudez, C., Echeverri, S. 2019. *Is nutritional care a human right? Clinical Nutrition Experimental*, 26: 1-7.
- Carr, F. J., Chill, D., Maida, N., Carr, F. J., Chill, D., Maida, N., Way, O. 2008. *Critical reviews in microbiology the lactic acid bacteria : a literature survey the lactic acid bacteria : a literature survey*. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281-370.
- Chan, E. S., Zhang, Z. 2002. *Encapsulation of probiotic bacteria lactobacillus acidophilus by direct compression*. *Institution of Chemical Engineers*, 80: 78-82.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C., Gong, J. 2017. *Issues deserve attention in encapsulating probiotics : Critical review of existing literature*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6): 1228-1238.
- Chen, L., Yang, T., Song, Y., Shu, G., Chen, H. 2017. *Effect of xanthan-chitosan-xanthan double layer encapsulation on survival of Bifidobacterium BB01 in simulated gastrointestinal conditions, bile salt solution and yogurt*. *LWT - Food Science and Technology*, 81: 274-280.
- Coghetto, C. C., Flores, S. H., Brinques, G. B., Flores, S.H., Ayub, M. A. Z. 2016a. *Viability and alternative uses of a dried powder, microencapsulated Lactobacillus plantarum without the use of cold chain or dairy products*. *LWT- Food Science and Technology*, 71: 54-59.
- Coghetto, C. C., Brinques, G. B., Siqueira, N. M., Pletsch, J., Soares, R. M. D., Ayub, M. A. Z. 2016b. *Electrospraying microencapsulation of Lactobacillus plantarum enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids*. *Journal of Functional Foods*, 24: 316-326.
- Costa, S. B., Duarte, C., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Januário, M. I. N., Vicente, A. A., Costa, M. L. B., Delgadillo, I. 2013. *Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil*. *Food Hydrocolloids*, 33: 199-206.
- Cujic, N., Trifkovic, K., Bugarski, B., Ibric, S., Pljevljakusic, D., Savikin, K. 2016. *Chokeberry (Aronia melanocarpa L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system*. *Industrial Crops and Products*, 86: 120-131.
- Çomak Göçer, E. M. 2016. Farklı süt ürünleri üretiminde kullanılan *Lactobacillus acidophilus*'un dinamik *in vitro* gastrointestinal modelde canlılığı ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 161 s.
- Çomak Göçer, E. M., Aşçı Arslan, A., Küçükçetin, A., Ergin, F. 2013. *Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu*. *Yetişkin ve Çocuklarda Probiyotikler*, 1(1): 33-37.
- 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.

- de Prisco, A. D., Van Valenberg, H. J. F., Fogliano, V., Mauriello, G. 2017. *Microencapsulated starter culture during yoghurt manufacturing, effect on technological features. Food Bioprocess Technol*, 10: 1767–1777.
- del Campo, R., Bravo, D., Canton, R., Ruiz-Garbajosa, P., García-Albiach, R., Montesi-Libois, A., Yuste, F. J., Abaira, V., Baquero, F. 2005. *Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt. Applied Environmental Microbiology*, 71(1): 1461–1469.
- Demirgöl, F., Sağdıç, O. 2018. *Fermente süt ürünlerinin insan sağlığına etkisi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 13: 45-53.
- Ding, W. K., Shah, N. P. 2009. *Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. Journal of Food Science*, 74(2): 100-107.
- Dini, C., Islan, G. A., de Urraza, P. J. and Castro, G. R. 2012. *Novel biopolymer matrices for microencapsulation of phages: Enhanced protection against acidity and protease activity. Macromolecular Bioscience*, 12: 1200-1208.
- Dobre, T., Stroescu, M., Stoica, A., Draghici, E., Antohe, N. 2008. *Inulin extraction and encapsulation. Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timişoara)*, 53(67): 1-2.
- Dror, D. K., Allen, L. H. 2011. *The importance of milk and other animal-source foods for children in low-income countries. Food and Nutrition Bulletin*, 32(3): 227-243.
- Duman, D., Karadag, A. 2020. *Inulin added electrospun composite nanofibres by electrospinning for the encapsulation of probiotics: characterisation and assessment of viability during storage and simulated gastrointestinal digestion. International Journal of Food Science and Technology*, 56: 927–935.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. 1987. *Araştırma ve Deneme Metotları (2. Baskı)*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Ebringer, L., Ferencík, M., Krajčovič, J. 2008. *Beneficial health effects of milk and fermented dairy products. Folia Microbiol*, 53(5): 378–394.
- Eğ, Z.R., Akan, A., Oktar, F.N., Kalkandelen, C., Gündüz, O. 2017. *Nişasta nano parçacıkların elektro püskürtme yöntemi ile vanilya taşıyıcı olarak üretilmesi. Tıp Teknolojileri Kongresi*, ss. 290-293, 12-14 Ekim, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- El, H., Mantzouridou, F., Gkatzionis, K. 2018. *Utilisation of water-in-oil-water (W 1/O/W 2) double emulsion in a set-type yogurt model for the delivery of probiotic Lactobacillus paracasei, Food Research International Journal*, 107: 325–336.
- Ergin, F. 2019. *Bakteriyofaj mikrokapsülasyonunun optimizasyonu ve mikrokapsüle bakteriyofajın yoğurt üretiminde kullanım olanaklarının araştırılması. Doktora tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Antalya. 87 s.*
- Erginkaya, Z., Turhan, E., Tatlı, D. 2017. *Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(1): 53–56.
- 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.

- 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.
- Favaro-Trindade, C. 2015. *Developments in probiotic encapsulation. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 6: 1-8.
- Fayed, B., El-Sayed, H. S., Abood, A., Hashem, A. M., Mehanna, N. S. H. 2019. *The application of multi-particulate microcapsule containing probiotic bacteria and inulin nanoparticles in enhancing the probiotic survivability in yoghurt. Biocatalysis and Agricultural Biotechnolog*, 22: 1-6.
- Fernandes, C. F. 1987. *Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. FEMS Microbiology Reviews*, 46: 343-356.
- Fernandes, R. V. D. B., Borges, S. V., Botrel, D. A., Oliveira, C. R. D. 2014. *Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. International Journal of Food Science and Technology*, 49: 1522–1529.
- Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., Reyes-Gavilán, C. G. D. L. 2015. *Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. BioMed Research International*, 2015: 1-13.
- Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Misaghi, A., Bokaie, S., Noori, N. 2016. *Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of Lactobacillus rhamnosus GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. LWT - Food Science and Technology*, 69: 365-371.
- García-Argueta, I., Dublán-García, O., Quintero-Salazar, B. 2013. *Effect of lactic acid bacteria on the textural properties of an edible film based on whey, inulin and gelatin. African Journal of Biotechnology*, 12(19): 2659–2669.
- 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.
- Gerrior, S., Putnam, J., Bente, L. 1998. Milk and milk products: their importance in the american diet. *The Diet Quality Balancing Act*, ss. 29-37, Mayıs-Ağustos.
- Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S., Hadavi, R. 2017. *Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. Food Chemistry*, 216: 146-152.
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C. N. 1999. *Encapsulation in the food industry: A review. International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3): 213–224.
- Gomez-Mascaraque, L. G., Morfin, R. C., Perez-Masia, R., Sanchez, G., Lopez-Rubio, A. 2016. *Optimization of electrospraying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in-vitro digestion. LWT- Food Science and Technology*, 69: 438-446.

- González, S., Fernández-Navarro, T., Arbolea, S., de los Reyes-Gavilán, C. G. 2019. *Fermented dairy foods: impact on intestinal microbiota and health-linked biomarkers. Frontiers in Microbiology*, 10: 1-10.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sariçoban, C. 2012. *Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1): 36-50.
- Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., Morelli, L. 2005. *Should yoghurt cultures be considered probiotic? British Journal of Nutrition*, 93: 783–786.
- Haffner, F. B., Diab, R., Pasc, A. 2017. *Encapsulation of probiotics: insights into academic and industrial approaches. AIMS Materials Science*, 3(1): 114-136.
- Haghshenas, B., Nami, Y., Haghshenas, M. 2015. *Effect of addition of inulin and fenugreek on the survival of microencapsulated Enterococcus durans 39C in alginate-psyllium polymeric blends in simulated digestive system and yogurt. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(4): 350–361.
- Halkman, A.K. 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ankara: Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd.Şti.
- Haug, A., Hostmark, A. T., Harstad, O. M. 2007. *Bovine milk in human nutrition - A review. Lipids in Health and Disease*, 6: 1–16.
- Haque, A., Richardson, R.K., Morris, E.R. 2001. *Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. Food Hydrocolloids*, 15(4-6): 593-602.
- Heidebach, T., Forst, P., Kulozik, U. 2009. *Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. International Dairy Journal*, 19: 77-84.
- Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U. 2012. *Microencapsulation of probiotic cells for food applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52: 291–311.
- Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., Lacroix, M., Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B. 2013. *Encapsulation of Probiotic Bacteria in Biopolymeric System. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53: 909–916 .
- Iyer, C., Kailasapathy, K. 2005. *Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. Journal of Food Science*, 70(1): 18-23.
- Jaworek, A., Sobczyk, A. T. 2008. *Electrospraying route to nanotechnology: an overview. Journal of Electrostatics*, 66: 197-219.
- Kailasapathy, K. 2002. *Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications further reading. Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3: 39–48.
- Kailasapathy, K. A. 2006. *Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT - Food Science and Technology*, 39: 1221–1227.
- Kanakdande, D., Bhosale, R., Singhal, R. S. 2007. *Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. Carbohydrate Polymers*, 67: 536–541.

- Karaçıl, M. Ş., Acar Tek, N. 2013. *Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2): 163-173.
- Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., Gordon, J. I. 2011. *Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. Nature*, 474(7351): 327-336.
- Kazancıgil, E. 2018. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 98s.
- Khan, I. T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M., Jaspal, M. H. 2019. *Antioxidant properties of Milk and dairy products: A comprehensive review of the current knowledge. Lipids in Health and Disease*, 18(1): 1–13.
- Kılıç, S. 1990. *Yoğurt kültürünü oluşturan L. bulgaricus ve S. thermophilus bakterilerinin antibakteriyel özellikleri üzerinde bir araştırma. Gıda Dergisi*, 15(6): 333-338.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. 2003. *Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International Dairy Journal*, 13(1): 3–13.
- Krasaekoopt, W., Watcharapoka, S. 2014. *Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. LWT - Food Science and Technology*, 57(2): 761–766.
- Kubicová, L., Predanocyová, K., Z, Kádeková, Z. 2019. *The importance of milk and dairy products consumption as a part of rational nutrition. Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1): 234–243.
- Kumar, R., Chauhan, S. K., Shinde, G. 2018. *Whey proteins : a potential ingredient for food industry- a review. Asian Journal of Dairy and Food Research*, 37(4): 283-290.
- Kumherová, M., Veselá, K., Jokešová, K., Kloidová, I., Horáčková, Š. 2020. *Influence of co-encapsulation of Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12 with inulin and ascorbic acid on its viability. Czech Journal of Food Sciences*, 38(1): 57–62.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. 1993. *Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Yayınları*.
- Laelorspoen, N., Wongsasulak, S., Yoovidhya, T., Devahastin, S. 2014. *Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus in zein-alginate core-shell microcapsules via electrospraying. Journal of Functional Foods*, 7: 342-349.
- Lean, M. E. 2019. *Principles of human nutrition. Medicine (United Kingdom)*, 47(3): 140–144.
- Li, M., Jin, Y., Wang, Y., Meng, L., Zhang, N., Sun, Y., Hao, J., Fu, Q., Sun, Q. 2019. *Preparation of Bifidobacterium breve encapsulated in low methoxyl pectin beads and its effects on yogurt quality. American Dairy Science Association*, 102(6): 4832–4843.
- Librán, C. M., Castro, S., Lagaron, J. M. 2017. *Encapsulation by electrospray coating atomization of probiotic strains. Innovative Food Science and Emerging Technologies. Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39: 216–222.

- Lorenzoni, G., Araújo, M. De, José, A., Queiroz, L., Jacob, E., Smanioto, J., Marlon, É., Flores, D. M., Bona, C. De, Ragagnin, C., Menezes, D. 2018. *Inulin, hi-maize and trehalose as thermal protectants for increasing viability of Lactobacillus acidophilus encapsulated by spray drying*. *LWT - Food Science and Technology*, 89: 128–133.
- López-Rubio A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y., Lagaron, J. M. 2012. *Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids*. *Food Hydrocolloids*, 28(1): 159-167.
- Makino, S., Ikegami, S., Kume, A., Horiuchi, H., Sasaki, H., Orii, N. 2010. *Reducing the risk of infection in the elderly by dietary intake of yoghurt fermented with Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. *British Journal of Nutrition*, 104: 998–1006.
- Maleki, O., Alizadeh, M., Amiri, S., Khosrowshahi, A. 2020. *Microencapsulation of Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469 in whey protein isolate-crystalline nanocellulose-inulin composite enhanced gastrointestinal survivability*. *LWT - Food Science and Technology*, 126: 1-9.
- Matsuzaki, T., Chin, J. 2000. *Modulating immune responses with probiotic bacteria*. *Immunology and Cell Biology*, 78(1): 67–73.
- Mckinley, M. 2005. *The nutrition and health benefits of yoghurt*. *International Journal of Dairy Technology*, 58(1): 1-12.
- Mehregan, A., Kadkhodae, R., Ghorani, B., Razzaq, H., Tucker, N. 2018. *International journal of biological macromolecules electrospray-assisted encapsulation of caffeine in alginate microhydrogels*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116: 208–216.
- 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.
- Metin, M. 2008. *Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri (3. Baskı)*. İzmir: Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları.
- Mizielińska, M., Łopusiewicz, L. 2018. *Encapsulation and evaluation of probiotic bacteria survival in simulated gastrointestinal conditions*. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(3): 13690–13696.
- Moayyedi, M., Eskandari, M. H., Rad, A. H. E., Ziaee, E., Khodaparast, M. H. H., Taghi Golmakani, M. 2018. *Effect of drying methods (electrospraying, freeze drying and spray drying) on survival and viability of microencapsulated Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469*. *Journal of Functional Foods*, 40: 391-199.
- Moghaddam, M. K., Mortazavi, S. M., Khaymian, T. 2015. *Micro/nano-encapsulation of a phase change material by coaxial electrospray method*. *Iranian Polymer Journal*, 24: 759–774.
- Mousa, A., Liu, X., Chen, Y., Zhang, H., Chen, W. 2014. *Evaluation of physiochemical, textural, microbiological and sensory characteristics in set yogurt reinforced by microencapsulated Bifidobacterium bifidum F-35*. *International Journal of Food Science and Technology*, 49: 1673–1679.

- Nan Chen, K., Ju Chen, M., Ruei Liu, J., Wen Lin, C., Yi Chiu, H. 2005. *Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. Journal of Food Science*, 70(3): 260-266.
- Narayan, S. S., Jalgaonkar, S., Shahani, S., Kulkarni, V. N. 2010. *Probiotics: current trends in the treatment of diarrhea. Hong Kong Medical Journal*, 16(3): 213–218.
- Özyurt, V. H., Ötles, S. 2014. *Properties of probiotics and encapsulated probiotics in food. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 13(4): 413-424.
- Panesar, P. S. 2011. *Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. Food and Nutrition Sciences*, 2: 47-51.
- Parhizkar, M., Reardon, P. J. T., Knowles, J. C., Browning, R. J., Stride, E., Barbara, P. R., Harker, A. H., Edirisinghe, M. 2016. *Electrohydrodynamic encapsulation of cisplatin in poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for controlled drug delivery. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 12(7): 1919–1929.
- Peredo, A. G. Beristain, C. I. Pascual, L. A. Azuara, E., Jimenez, M. 2016. *The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. LWT - Food Science and Technology*, 73: 191-196.
- Pimentel, T. C., Garcia, S., Prudencio, S. H. 2016. *Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei in set yoghurts during refrigerated storage. International Journal of Dairy Technology*, 65(1): 104-110.
- Picot, A., Lacroix, C. 2004. *Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Dairy Journal*, 14(6): 505-515.
- Poletto, G., Raddatz, G. C., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., Barin, J. S., Wagner, R., Menezes, C. R. De. 2019. *Food Hydrocolloids Study of viability and storage stability of Lactobacillus acidophilus when encapsulated with the prebiotics rice bran, inulin and Hi-maize. Food Hydrocolloids*, 95: 238–244.
- Popescu, A., Angel, E. 2009. *Analysis of milk quality and its importance for milk processors. Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, 42(1): 501–506.
- Prasanna, P. H. P., Charalampopoulos, D. 2019. *Encapsulation in an alginate – goats milk – inulin matrix improves survival of probiotic Bifidobacterium in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt. International Journal of Dairy Technology*, 72(1): 132-141.
- Prentice, A. M. 2014. *Dairy products in global public health. The American Journal Clinical Nutrition*. 99: 1212-1216.
- Rogelj, I. 2000. *Milk, dairy products, nutrition and health. food technology and biotechnology. Food Technology and Biotechnology*, 38(2): 143–147.
- Rosolen, M. D., Bordini, F. W., Oliveira, P. D. D., Conceição, F. R., Pohndorf, R. S., Fiorentini, A. M. Silva, W. P. D., Pieniz, S. 2019. *Symbiotic microencapsulation of Lactococcus lactis subsp. lactis R7 using whey and inulin by spray drying. LWT - Food Science and Technology*, 115: 1-7.

- Sahin, Y. M., Su, S., Ozbek, B., Yücel, S., Pinar, O., Kazan, D., Oktar, F. N., Ekren, N., Gunduz, O. 2018. *Production and characterization of electrospun fish sarcoplasmic protein based nano fibers*. *Journal of Food Engineering*, 222: 54–62.
- Salarbashi, D., Bazeli, J., Rad, E. F. 2020. *An update on the new achievements in the nanocapsulation of anthocyanins*. *Nanomedicine Journal*, 7(2): 87-97.
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Mohammadi, A. 2019. *Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140: 59–68.
- Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P. S, Sharma, A., Singhal, R. S. 2013. *Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum arabic as matrices for microencapsulation of mint oil*. *Carbohydrate Polymers*, 95: 177–182.
- Serna-Cock, L., Vallejo-Castillo, V. 2013. *Probiotic encapsulation*. *African Journal of Microbiology*, 7(40): 4743–4753.
- Shen, Y., Jing Ni, Z., Thakur, K., Guo Zhang, J., Hu, F., Jun Wei, Z. 2021. *Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181: 528–539.
- Shi, E. L., Hua Li, Z., Liang Zhang, Z., Ting Zhang, T., Ming Yu, W., Lan Zhou, M., Xing Tang, Z. 2013a. *Encapsulation of Lactobacillus bulgaricus in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure*. *LWT - Food Science and Technology*, 54: 147-151.
- Shi, E. L., Hua Li, Z., Ting Li, D., Xu, M., Yu Chen, H., Liang Zhang, Z., Xing Tang, Z. 2013b. *Encapsulation of probiotic Lactobacillus bulgaricus in alginate-milk microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions*. *Journal of Food Engineering*, 117: 99-104.
- Shihata, A., Shah, N. P. 2002. *Influence of addition of proteolytic strains of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus to commercial ABT starter cultures on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria*. *International Dairy Journal*, 12(9): 765-772.
- Silva, P. I., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., De Oliveira, I. R. N. 2013. *Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) peel extracts using simultaneous analysis of responses*. *Journal of Food Engineering*, 117: 538-544
- Singh, P., Medronho, B., Alves, L., Silva, G. J., Miguel, M. G., Lindman, B. 2017. *Development of carboxymethyl cellulose-chitosan hybrid micro and macroparticles for encapsulation of probiotic bacteria*. *Carbohydrate Polymers*, 175: 87–95.
- Šipailienė, A., Petraitytė, S. 2018. *Encapsulation of probiotics: proper selection of the probiotic strain and the influence of encapsulation technology and materials on the viability of encapsulated microorganism*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10: 1–10.

- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., Kailasapathy, K. 2000. *Encapsulation of probiotic bacteria with alginate – starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Journal of Food Microbiology*, 62: 47–55.
- Sun, Y., Zhou, W., Huang, Y. 2020. *Encapsulation of tartary buckwheat flavonoids and application to yoghurt. Journal of Microencapsulation*, 37(6): 445–456.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A., Shahedi, M. 2011. *Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. Food Science and Technology International*, 18(4): 381–390.
- Taşdemir, A. 2017. *Probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotikler. Sağlık Akademisi Dergisi*, 2(1): 70-88.
- Tavares, G. M., Croguennec, T., Carvalho, A. F., Bouhallab, S. 2014. *Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: applications and trends. Trends in Food Science & Technology*, 37: 5-20.
- Turki, O., Ershidat, M., Mazahreh, A. S. 2009. *Probiotics Bacteria in fermented dairy products. Pakistan Journal of Nutrition*, 8(7): 1107-1113.
- Ul, Q., Riaz, A., Masud, T. 2013. *Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53: 231–244.
- 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.
- Ünal, R.N., Besler, H.T. 2019. *Beslenmede Sütün Önemi. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. <https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/B%208.pdf> Son erişim tarihi: 04.09.2019.*
- Vinderola, C. G., Mocchiutti, P., Reinheimer, J. A. 2002a. *Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. Journal of Dairy Science*, 85(4): 721–729.
- Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhart, S., Reinheimer, J. A. 2002b. *Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. International Dairy Journal*, 12: 579–589.
- Vodnar, D. C., Socaciu, C., Rotar, A. M., Stănilă, A. 2010. *Morphology, FTIR fingerprint and survivability of encapsulated lactic bacteria (Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus) in simulated gastric juice and intestinal juice. International Journal of Food Science and Technology*, 45: 2345–2351.
- Volokh, O., Klimenko, N., Berezhnaya, Y., Tyakht, A., Nesterova, P., Popenko, A., Alexeev, D. 2019. *Human gut microbiome response induced by fermented dairy product intake in healthy volunteers. Nutrients*, 11(547): 1-12.

- Vos, P. De, Faas, M. M., Spasojevic, M., Sikkema, J. 2010. *Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal*, 20(4): 292–302.
- Weinbreck, F., Bodnár, I., Marco, M. L. 2010. *Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products? International Journal of Food Microbiology*, 136(3): 364–367.
- 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.
- Wu, Y., Clark, R. L. 2012. *Electrohydrodynamic atomization: a versatile process for preparing materials for biomedical applications electrohydrodynamic atomization: a versatile process for preparing materials for biomedical applications. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 19(5): 573–601.
- Xie, J., Wang, C. 2007. *Encapsulation of proteins in biodegradable polymeric microparticles using electrospray in the taylor cone-jet mode. Biotechnology and Bioengineering*, 97(5): 1278–1290.
- Xu, H., Wang, L., Su, H., Gu, L., Han, T., Meng, F., Liu, C., 2015. *Making good use of food wastes: green synthesis of highly stabilized silver nanoparticles from grape seed extract and their antimicrobial activity. Food Biophysics*, 10: 12-18.
- Yan Chen, H., Yi Li, X., Jie Liu, B., Hong Meng, X. 2017. *Microencapsulation of Lactobacillus bulgaricus and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. Journal of Functional Foods*, 29: 248-255.
- Yan Chen, M., Zheng, W., Yue Dong, Q., Hua Li, Z., E Shi, L., Xing Tang, Z. 2014. *Activity of encapsulated Lactobacillus bulgaricus in alginate-whey protein microspheres. Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5): 736-741.
- Yoğurtçu, H. 2018. *Yanıt yüzey metodu kullanarak mikrodalga ile elma kurutmanın optimizasyonu. Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 1-17.
- Yücel Şengün, İ. 2011. *Lactic acid bacteria used in the production of fermented foods. Biological Diversity and Conservation*, 4(1): 42-53.
- Zabot, L. G., Silva, E. K., Azevedo, V. M., Meireles, M. A. A. 2016. *Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. Food Research International*, 85: 26-35.
- Zaeim, D., Sarabi-jamab, M., Ghorani, B. 2017. *Food and Bioproducts Processing Electrospray assisted fabrication of hydrogel microcapsules by single- and double-stage procedures for encapsulation of probiotics. Food and Bioproducts Processing*, 102: 250–259.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R., Tromp, R. H. 2018. *Electrospray-assisted drying of live probiotics in acacia gum microparticles matrix. Carbohydrate Polymers*, 183: 183-191.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R. 2019. *Double layer co-encapsulation of probiotics and prebiotics by electrohydrodynamic atomization. LWT- Food Science and Technology*, 110: 102-109.

- Zaeim, D., Sarabi-jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodaei, R. 2020. *Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electro-hydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation*. *Food Structure*, 25(18): 1-9.
- Zeng, J., Yang, L., Liang, Q., Zhang, X., Guan, H., Xu, X., Chen, X., Jing, X. 2005. *Influence of the drug compatibility with polymer solution on the release kinetics of electrospun fiber formulation*. *Journal of Controlled Release*, 105: 43–51.
- Zhao, Q., Wang, M. 2019. *Manipulating the release of growth factors from biodegradable microspheres for potentially different therapeutic effects by using two different electrospray techniques for microsphere fabrication*. *Polymer Degradation and Stability*, 162: 169–179.
- Zoghi, A., Khosravi, K., Reza, D. 2020. *Application of edible films containing probiotics in food products*. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 15(4): 307–320.

ÖZGEÇMİŞ

Çiğdem HÖKELEKLİ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2018-2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya
Lisans 2014-2018	Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Antalya