



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

PROBİYOTİK LEBLEBİ ÜRETİMİ

YAĞMURNUR SÜRÜCÜ

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. FATİH ÖZBEY**

**BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI
BESLENME VE DİYETETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Temmuz/2023**

İTHAF

“Bu tezi, 6 Şubat 2023 tarihli Kahramanmaraş merkezli depremi yaşayan bir birey olarak; ihmaller yüzünden depremde hayatını kaybeden, hayalleri ve çalışmaları yarım bırakılan tüm insanlara ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, bu araştırmanın programlanması ve gerçekleşmesinde bana yardımcı olan çok değerli danışman hocam Sağlık Bilimleri Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Fatih ÖZBEY'e, yine lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca mesleki bilgileriyle yoluma ışık tutan Doç. Dr. Elvan YILMAZ AKYÜZ, Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM, Doç. Dr. Aysun YÜKSEL, Doç. Dr. Özlem AYTEKİN ve Arş. Gör. Yasemin Tuğba ÖĞÜNÇ'e minnetlerimi sunarım.

Bilgileriyle yolumu aydınlatan sevgili hocam Leyla TARHAN ÇELEBİ'ye, manevi desteğini her zaman hissettiren Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği doktora öğrencisi Gıda Yüksek Mühendisi Sümeyye Gümüş'e, tez yazım sürecinde bilgilerini benimle paylaşmaktan bir an bile tereddüt etmeyen canım arkadaşım Diyetisyen Tuğçe Yılmaz'a ve dostum Diyetisyen İrem Uğur'a teşekkürü borç bilirim.

Projenin çeşitli aşamalarını gerçekleştiren SFA Arge ve Özel Sağlık Hiz. Ticaret Ltd. Şirketi'ne, projeye verdiği maddi destek nedeni ile de Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (Proje no: 2022/167) teşekkür ederim.

Ayrıca, bu hayattaki en değerli varlıklarım; annem, babam ve abime, her zaman yanımda oldukları ve beni her daim destekledikleri için sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
RESİMLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. FONKSİYONEL GIDALAR	3
2.1.1. Süt Bazlı Olmayan Probiyotik Gıda Pazarı	4
2.2. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR VE SAĞLIK YARARLARI	4
2.3. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN MİKROKAPSÜLASYONU.....	6
2.3.1. Mikrokapsülasyon Yöntemleri	8
2.3.1.1. Püskürtmeli kurutma.....	8
2.3.1.2. Dondurarak kurutma	9
2.3.1.3. Emülsiyon	10
2.3.1.4. Ekstrüzyon	11
2.4. MİKROKAPSÜLASYON TEKNİĞİ KULLANILARAK YENİ PROBİYOTİK FONKSİYONEL GIDALARIN GELİŞTİRİLMESİ	11
2.4.1. Mikrokapsüle Probiyotik Mikroorganizmalar İle Üretilen Süt Kaynaklı Olmayan Gıdalar	11
2.4.2. Mikrokapsüle Probiyotik Mikroorganizmalar İle Üretilen Hububat Bazlı Gıdalar	13
2.5. PROBİYOTİK TAŞIYICISI OLARAK NOHUT	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. GEREÇ	16
3.2. YÖNTEM	17
3.2.1. Emülsiyon Metodu İle Probiyotik Mikrokapsüllerin Üretilmesi.....	17
3.2.2. Probiyotik Leblebi Üretimi	17
3.2.3. Probiyotik Leblebi Örneklerine Yapılan Analizler.....	19
3.2.3.1. Hızlandırılmış raf ömrü belirlenmesi.....	19
3.2.3.2. Mikrobiyolojik analizler	20

3.2.3.3. Duyusal analizler	21
3.2.3.4. İstatiksel analizler	22
4. BULGULAR.....	24
4.1. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ.....	24
4.1.1. Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizmanın depolama stabilizasyonu	24
.....	29
4.1.2. Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının farklı sıcaklıklara göre değişimi	29
4.2. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN HEDEF RAF ÖMRÜ TESPİTİ.....	32
4.2.1. Elde edilen probiyotik leblebinin depolama koşulu 25°C olduğu durumda hedef raf ömrü tespiti.....	33
4.2.2. Elde edilen probiyotik leblebinin depolama koşulu 0°C olduğu durumda hedef raf ömrü tespiti.....	33
4.3. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN DUYUSAL ÖZELLİKLERİ	33
5. TARTIŞMA	42
5.1. MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER.....	42
5.2. DUYUSAL ÖZELLİKLER.....	49
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	52
6.1. SONUÇLAR.....	52
6.2. ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	56
EK	61

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Püskürtmeli kurutma yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları ...	9
Tablo 2.2: Dondurarak kurutma yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları...	10
Tablo 2.3: Emülsiyon yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları.....	10
Tablo 2.4: Ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları.....	11
Tablo 2.5: Mikrokapsüle probiyotik bakteriler kullanılarak geliştirilen hububat bazlı gıdalara ait örnek çalışmalar.....	14
Tablo 2.6: Nohutun besin içeriği	15
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan leblebinin etiket bilgileri.....	16
Tablo 4.1: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 0°C ve 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişimi.....	26
Tablo 4.2: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri.....	26
Tablo 4.3: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişimi	28
Tablo 4.4: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri	28
Tablo 4.5: Probiyotik leblebi örneklerinde probiyotik mikroorganizma sayısı ortalamalarının sıcaklık değerlerine göre değişimi.....	30
Tablo 4.6: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının sıcaklık değerlerine göre değişiminin ölçümler bazında değerlendirilmesi.....	32
Tablo 4.7: Probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisine göre analiz sonucu.....	34
Tablo 4.8: Probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisine göre analiz sonucu.....	35
Tablo 4.9: Probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisine göre analiz sonucu.....	36
Tablo 4.10: Probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisine göre analiz sonucu.....	38
Tablo 4.11: Probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik kategorisine göre analiz sonucu.....	39

Tablo 4.12: Probiyotik leblebi örneklerinin tüm kategoriler bazında duyuşal analiz sonuçları.....	41
--	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Probiyotiklerin sağlık yararları	5
Şekil 3.1: Probiyotik leblebi üretim akış şeması	18
Şekil 4.1: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 0°C ve 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişim grafiği	27
Şekil 4.2: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C eskitme koşulunda depolama süresi boyunca değişimi	29
Şekil 4.3: Probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisine göre yüzde analizinin grafiği	34
Şekil 4.4: Probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisine göre yüzde analizinin grafiği	36
Şekil 4.5: Probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisine göre yüzde analizinin grafiği	37
Şekil 4.6: Probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisine göre yüzde analizinin grafiği	38
Şekil 4.7: Probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik kategorisine göre yüzde analizinin grafiği	40

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3.1: Probiyotik leblebi örneklerinin görünümü.....	19
Resim 3.2: Probiyotik leblebi örneklerinin duyuusal analizi	22



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
°C	: Derece Santigrat
FOSHU	: Foods for Specified Health Use-Gıdanın Sağlıklı Yaşam İçin Kullanımı
GRAS	: Generally Recognized As Safe (Genellikle güvenilir kabul edilen)
KOB	: Koloni oluşturan birim
L	: <i>Lactobacillus</i>
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
LOG	: Logaritma
MRS	: de Man, Rogosa and Sharpe Agar
PH	: Hidrojen Potansiyeli
TSA	: Tryptic Soy Agar

PROBİYOTİK LEBLEBİ ÜRETİMİ

ÖZET

Amaç: Bu tez çalışmasında *Lactobacillus bulgaricus* ATA-DBL980012, *Lactobacillus plantarum* ATA-LPC98052 ve *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Türkiye) hücrelerinden oluşan; emülsiyon metoduyla kapsüllenen bakteri miksinin probiyotik leblebi üretiminde kullanım olanakları araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Üretilen probiyotik leblebi örnekleri 0, 25 ve 40°C’de 4 ay depolanmıştır. Tüm sıcaklık derecelerinde depolamanın 0. günü; 1., 2., 3., 4., 5., 6., 10. haftası; 3. ve 4. aylarında probiyotik leblebi örneklerinin içeriğindeki probiyotik mikroorganizma sayısı takip edilmiştir. Toplam canlılık seviyelerinin tespit edilmesi sonrasında, ürünün hedeflenen 360 günlük raf ömrünü sağlama durumu uyarlanmış Arrhenius denkleminde 40°C verileri dikkate alınarak araştırılmıştır. Elde edilen ürünün duyu analizi 72 kişiden oluşan paneliste 9 likert ölçekli duyu anket formu sunularak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışma esnasında yapılan analizlerde leblebiye ilave edilen probiyotik bakteri miksi, probiyotik ürünlerin etkili olabilmesi için belirlenen 6 log kob/mL standardını sağlayarak tüm sıcaklıklarda depolamanın son gününe kadar probiyotik özelliğini korumuştur. Çalışmamızda depolama süresi ve sıcaklığı arttıkça probiyotik mikroorganizma sayısında düşüş görülmüştür. Oda koşullarında depolamada çalışmanın sonuna dek probiyotikler yaklaşık %79 korunabilir iken 0°C’de %94, 40°C’de ise %78 oranında korunabilmiştir. Eskitme koşulunun 120 günde yapılan analiz verileri, Arrhenius hesaplaması ile ürünün oda sıcaklığında 1 yıldan fazla raf ömrü sunduğunu göstermiştir.

Sonuç: Probiyotik leblebi örneklerinin 4 ay depolanması boyunca içeriğindeki mikrokapsüle *Lactobacillus bulgaricus* ATA-DBL980012, *Lactobacillus plantarum* ATA-LPC98052 ve *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Türkiye) miksinin seviyeleri değerlendirildiğinde, çalışmanın probiyotik leblebi geliştirilmesinde umut vadettiği görülmektedir. Genel bulgular neticesinde leblebinin probiyotik bakteriler için uygun gıda matrisi olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Emülsiyon metodu, Fonksiyonel Gıda, Leblebi, Mikroapsüasyon, Probiyotik



PROBIOTIC LEBLEBI PRODUCTION

ABSTRACT

Aim: In this thesis, the possibilities of using the bacterial mixture encapsulated by the emulsion method consisting of *Lactobacillus bulgaricus* ATA-DBL980012, *Lactobacillus plantarum* ATA-LPC98052 and *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Turkey) cells in the production of probiotic leblebi were investigated.

Materials and Methods: The probiotic leblebi samples produced were stored for 4 months at three different temperature conditions: 0, 25, and 40°C. Viability levels of the total probiotic bacteria in the samples were monitored on specific days throughout the storage period. The product's ability to achieve the targeted 360-day shelf life was investigated using the adapted Arrhenius equation, considering the data at 40°C. Additionally, sensory analysis of the product was conducted by presenting a sensory questionnaire with a 9-point Likert scale to a panel of 72 individuals.

Results: The probiotic bacterial mixture added to the leblebi maintained its probiotic properties throughout the entire storage period, at all temperatures tested, and met the standard requirement of 6 log kob/mL for effective probiotic products. However, as the storage duration and temperature increased, a decrease in bacterial count was observed. Under room temperature storage conditions, the viability level remained at approximately 79% until the end of the study, while at 0°C it remained at 94%, and at 40°C it remained at 78%. Analysis data from the accelerated aging condition of 120 days indicated that the product had a shelf life of over one year at room temperature, as determined by the Arrhenius calculation.

Conclusion: When the levels of the microcapsulated *Lactobacillus bulgaricus* ATA-DBL980012, *Lactobacillus plantarum* ATA-LPC98052, and *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Turkey) mixture in probiotic leblebis were evaluated during a 4-month storage period, the study showed promising results for the development of probiotic leblebi. Based on the general findings, leblebis were considered to be a suitable food matrix for probiotic bacteria.

Key Words: Emulsion method, Functional Food, Leblebi, Microcapsulation, Probiotics



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde sağlıklı yaşam ve beslenme konusunda oldukça ilgili olan tüketiciler sayesinde çeşitli fonksiyonel gıdalara olan eğilim artmaktadır (1). Fonksiyonel gıda kavramı, Beslenme ve Diyetetik Akademisi tarafından “etkili düzeylerde ve düzenli olarak bir diyetin parçası şeklinde tüketildiğinde sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratan kuvvetlendirilmiş, zenginleştirilmiş veya zenginleştirilmiş gıdalar ile birlikte tüm gıdalar” olarak tanımlanmıştır (2). Fonksiyonel gıdalar içerisinde probiyotik mikroorganizma barındıran gıdalar, en çok bilinen ve tüketilen grup olarak ön plana çıkmaktadır (3). Probiyotik bakterilerin yeterli düzeyde alındığında konak üzerinde olumlu etkiler sağlayan canlı organizmalar olduğu bilinmektedir (4).

Suşa özgü probiyotikler, sağlıklı bir bağışıklık sisteminin sürdürülebilmesi de dahil olmak üzere olumlu sağlık sonuçlarını desteklemektedir (5). Probiyotik mikroorganizma içeren gıda ürününün probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için minimum 6 logaritma (log) koloni oluşturan birim (kob)/g canlı probiyotik mikroorganizmaya sahip olması şartı belirtilmiştir (6).

Probiyotik ürünlerden beklenen temel kriter, son ürünün son tüketim tarihine kadar canlı probiyotik mikroorganizma sayısını koruyabilmesidir. Sindirim enzimleri, safra tuzları, oksijen, asitlik, pH (Hidrojen potansiyeli), depolama koşulları ve süresi, fermentasyon süresi, mikrobiyal rekabet, titrasyon asitliği gibi ekstrem koşullar, bu kriterin sağlanmasını zorlaştırabilmektedir (7).

Mikrokapsülasyon işlemi, probiyotik mikroorganizmaların olumsuz koşullara tolerans göstermesine ve bu sayede canlılık düzeyini koruyabilmesine olanak tanıyan teknikler arasında yer almaktadır. Bu teknoloji sayesinde çekirdek materyal, oksijen, sindirim enzimleri, asitlik gibi olumsuz koşullardan korunabilmektedir (8,9).

Literatürde mikrokapsüle probiyotik mikroorganizmalar kullanılarak geliştirilen fonksiyonel gıda çalışmaları, genel olarak ısının probiyotik organizmadaki maruziyetini azaltmaya odaklanmış durumdadır. Isıya karşı koruma sağlayan kaplama materyalleri, probiyotik mikrokapsüllerin her türlü prebiyotik gıdalarda uygulanmasına olanak sağlamaktadır. Bu doğrultuda, tez çalışmamızda yüksek besleyici özelliğe sahip bitkisel kaynaklı prebiyotik bir gıda olan leblebinin ilk kez *Lactobacillus (L.) bulgaricus* ATA-

DBL980012, L. plantarum ATA-LPC98052 ve Bacillus subtilis LTCS-BSSP031101 (Türkiye) probiyotik mikroorganizmalarından oluşan emülsiyon yöntemiyle kapsüle edilmiş *LLB Mix LTYS-1012021* miks ile kaplanarak probiyotik yeni bir fonksiyonel ürün üretimi amaçlanmıştır.

Çalışmada test edilen hipotez, üretilen probiyotik leblebinin depolama süresi ve depolama sıcaklığı arttıkça ürün içeriğindeki probiyotik mikroorganizma sayısındaki azalmadır. Bu kapsamda çalışmanın ikincil hedefi, oluşan fonksiyonel ürünün mikrobiyolojik ve duyusal analizleri gerçekleştirilerek elde edilen üründe probiyotik mikroorganizma canlılığının depolama süresince saptanmasıdır. Ürünün hedeflenen raf ömrünü sağlama düzeyini ve elde edilen ürünün tüketici tercih derecesinin de belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. FONKSİYONEL GIDALAR

Tarihin her döneminde insanlar, bazı besinlerin ilaç gibi etkisi olduğuna inanmışlardır. Bu nedenle fonksiyonel gıda kavramı oldukça eskiye dayandırabilmektedir. Günümüzde beslenmeye bağlı kronik hastalıkların artması, bir hastalık ortaya çıkmadan engelleme isteği, fonksiyonel besinlerin olumlu sağlık yararları konusundaki bilimsel çalışmaların artması ile fonksiyonel gıda kavramı son yıllarda daha fazla gündeme gelmektedir (10).

Japonya’da 1988 yılında piyasada 100 adet fonksiyonel ürün bulunduğu bilinmektedir. Japonya’da alerjik etkenlerin gıdadan dışlanması sonucu içeriğinde bulunan mevcut bileşenler sayesinde sağlık üzerine faydalı etkilerde bulunan gıdaları tanımlandırmak amacı ile “Foods for Specified Health Use - Gıdanın Sağlık İçin Kullanımı” (FOSHU) kavramı kullanılmıştır. Japonya’da 2019 yılında onaylanan FOSHU ürünlerinin sayısının 1063’e çıktığı görülmektedir (11). Fonksiyonel gıda sektöründe, vitamin, mineral, antioksidan, yağ asidi gibi içeriklerden zenginleştirmek temel hedef olmaktadır. Bunlar arasında probiyotik gıdalar, olumlu sağlık etkileri ve tüketici tarafından artan ilgi sayesinde ayrı bir önem arz etmektedir (12).

Sağlık ve gıda etkisi gibi konular hakkında tüketici bilincinin artması ile büyüyen probiyotik gıda pazarı, fonksiyonel gıda topluluğunun %60-70’ini oluşturmaktadır (13). Küresel probiyotik yiyecek ve içecek pazarının oransal artışını inceleyen 2016 yılına ait bir çalışmada, bu oranın 2011 yılında yaklaşık 24,8 milyar avro olduğu, 2015 yılında 31,1 milyar avroyu aşkın olduğu belirtilmekte ve 2020 yılında ise 43 milyar avroya ulaşacağı öngörülmektedir (14).

Küresel probiyotik pazarı 2019’da yaklaşık 46,20 milyar dolara ulaşmıştır. Probiyotik pazarına olan rağbet ve bu konuda geliştirilen teknolojiler göz önünde tutularak bu rakamın 2020 ile 2026 arasında %6,7 artış göstererek 75,90 milyar dolara ulaşacağı öngörülmektedir (15).

2.1.1. Süt Bazlı Olmayan Probiyotik Gıda Pazarı

Hayvansal kaynaklı süt ve fermente süt ürünleri probiyotikler için uygun bir matriks oluşturduğu için probiyotiklerin gıdalarda kullanımında genellikle süt ve süt ürünleri kullanılmaktadır (16). Günümüzde artan vejetaryen tarzı beslenme, süt ürünlerinin bitkisel ürünlere göre yüksek kolesterol içeriğine sahip olması, laktoz intoleransına sahip tüketiciler tarafından sütte bulunan laktozun sindirilememesi, etnik sebepler ile hayvansal gıda tüketiminin tercih edilmemesi gibi nedenler, süt bazlı probiyotik kaynaklarına alternatif oluşturulması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durum bitkisel kaynaklı probiyotik gıdalara olan ihtiyacı arttırmaktadır (17).

Amerika’da 2001-2006 yılları arasında probiyotik gıda pazarının %90’ını süt kaynaklı probiyotik gıdalar oluşturmuş iken 2014 yılında bu oranın %63’e düştüğü görülmektedir. Bitkisel kaynaklı probiyotik ürünler bu sektörde %36’lık pay almaktadır (18).

Süt ve süt ürünü bazlı probiyotik gıdaların olumsuz yanlarına karşın; meyve suyu, tatlı, tahıl ve hububat gibi bitkisel kaynaklara probiyotik ilave edilerek süt alerjisi içermeyen probiyotik gıdaların geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır (19).

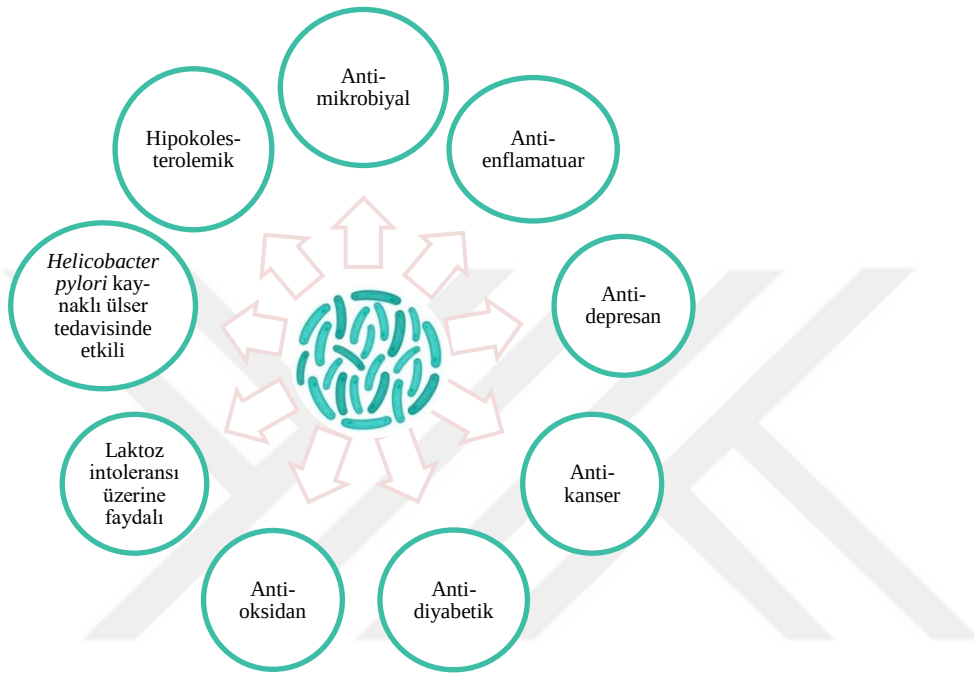
2.2. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR VE SAĞLIK YARARLARI

Probiyotik tanımı ilk kez Lilly ve Stillwell 1965 yılında “mikroorganizma tarafından salgılanarak diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen bileşenler” olarak literatüre kazandırılmıştır. Probiyotikler, Parker tarafından “intestinal mikroflora üzerinde olumlu etkileri olan bütünleyici besinler” olarak bildirilmiştir. Fuller tarafından ise 1989 yılında “konakçı hayvanın yararına bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştiren canlı mikrobiyal besin katkısı” olarak tanımlanmıştır (20). Guarner ve Schaafsman “sağlıklı yaşamayı düzenlemek ile beraber sağlık yararı sağlayan belli miktarda canlı organizma” olarak bildirilmiştir (21).

Probiyotik özelliğe sahip mikroorganizmaların insan sağlığı üzerinde pozitif etkiler yarattığı ise, ilk olarak 1908 yılında Nobel ödülüne sahip Elie Metchnikoff tarafından saptanmıştır. Bulgar köylülerin daha uzun süre yaşadığını fark etmiştir. Araştırmaları sonucunda bu kitlenin yoğurt tüketiminin çok olduğu dikkatini çekmiş ve

araştırmaları sonucu yoğurtta canlı bakteri olduğunu ortaya koymuştur. Bu canlı bakterileri “*L. bulgaricus*” olarak tanımlamıştır (22).

Probiyotik mikroorganizmaların literatürde yer alan bazı sağlık yararları şekil 2.1’de verilmiştir (23).



şekil 2.1: Probiyotiklerin sağlık yararları

Probiyotiklerin bu olumlu etkileri suşa özel olmaktadır. Bu nedenle, yalnızca bir suşun bu etkilerin tamamını birden gösterebilmesi mümkün olmamaktadır (24). Sağlığa faydalı etkilerine ek olarak, son üründe iyi duyusal özellikler oluşturması, ürünün raf ömrünü uzatma ve düşük depolama maliyeti gibi faktörlerle de tüketiciye kolaylık sağlamaktadır. Aynı zamanda proteolitik, lipolitik ve β -galaktozidik özelliğe sahip olduğundan dolayı sindirim sistemini desteklemektedir (25).

Organizmaların probiyotik olarak tanımlanabilmesi ve kullanılabilmesi için ise sıralanan özelliklere sahip olması gerekmektedir: (26).

- Patojen olmamalı,
- Patojen bakterilere karşıt etki göstermeli,

- Safra tuzlarına ve asidik koşullara karşı dayanıklı olmalı,
- İnsan sindirim sistemi yüzeyinde tutunma oranı iyi olmalı,
- Bağışıklık sistemini pozitif yönde etkilemeli,
- Gelişimi ve metabolizması hızlı olmalı,
- Gıdalarda güvenli şekilde kullanılabilmeli.

Mikroorganizmaların probiyotik olarak nitelenmesi için gereken bu kriterler, gıda işleme esnasında travmatik nedenlere (yüksek ısı, mekanik darbe, biyosidal kimyasallar vb.) maruziyet nedeni ile özelliğini yitirebilmektedir. Bu durum, probiyotiklerin gıda içinde korunmasını sağlayacak ve yararlılığını arttırabilecek yeni teknolojilerin araştırılmasını beraberinde getirmektedir. Bu teknolojilerin en güncel olanı, probiyotik mikroorganizmaların gıdalara ilave edilmesini ve ilave edilen bu probiyotiklerin sindirim sisteminde korunmasını sağlayabilen “mikrokapsülasyon yöntemi” olarak bilinmektedir.

2.3. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN MİKROKAPSÜLASYONU

Mikrokapsülasyon terimi, katı, sıvı veya gaz formdaki gıda bileşenleri, enzimler gibi aktif maddelerin, protein veya karbonhidrat temelli kapsüller içinde bir veya birden fazla sarılarak hapsedilmesi olarak tanımlanmaktadır (27).

Hücreler 0,45 µm'den küçük gözenekleri olan 5-300 µm arasında değişen çapta kaplama maddesi ile kaplanmaktadır. Mikrokapsüller incelendiğinde basit bir küre şeklinde oldukları görülmektedir. İçerikte temel olarak aktif madde veya karışım yer almakta ve bu aktif madde çekirdek olarak nitelendirilmektedir. Dış kısımda yer alan kaplama materyali ise duvar veya kabuk şeklinde isimlendirilmektedir. Bu durumda mikrokapsüllerin görünüşleri aktif maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine, kabuk maddenin kompozisyonuna ve seçilen mikrokapsülasyon metoduna göre değişim göstermektedir (8,28,29).

Mikrokapsülasyonda kullanılacak duvar materyaller, genellikle polimer yapılı, toksik ve anti bakteriyel olmayan özellikte bileşiklerdir. Suda çözünebilen, organik bir çözücüye ihtiyaç duymayan doğal polisakkaritler ya da proteinler, yaygın olarak kullanılan kaplama ajanlarını oluşturmaktadır (24).

Mikrokapsülasyon teknolojisinin probiyotik mikroorganizmalara sağladığı avantajlar sıralanmıştır: (30).

- Kontaminasyon riskinin azaltılması
- Oksijene hassas kültürlerin üretilmesi
- Kültürlerin hava akımında kurutulabilmesi
- Santrifüje hassas kültürlerin geri kazanımının arttırılması
- Yüksek ekzopolisakkarit üreten kültürlerin geri kazanımının arttırılması
- Asidik koşullarda canlılığın korunabilmesi
- Safra tuzu varlığında canlılığın arttırılması
- Depolama sırasında canlılığın arttırılması
- Yüksek veya düşük sıcaklıklara karşı korumanın arttırılması
- Son ürünlerdeki canlılık düzeyinin arttırılması
- Bakteriyofajlara karşı koruma

Mikrokapsülasyon teknolojisi son 10 yılda hızla gelişim evresine geçmiştir. Son yıllarda fonksiyonel gıda üretimine verilen önemin katlanarak artmasından dolayı bu teknoloji, gıda sektörü açısından daha da nitelik kazanmıştır (31,32). Bu bağlamda probiyotik mikroorganizmaların yüksek canlılıkta kalabilmesi için mikrokapsülasyon teknolojisi ile yeni taşıyıcı materyal kombinasyonlarının ve yeni uygulamaların açığa çıkarılması önemli bir noktadır (24).

2.3.1. Mikrokapsülasyon Yöntemleri

2.3.1.1. Püskürtmeli kurutma: Püskürtmeli kurutma yöntemi, sıvıların oldukça kısa bir sürede yapısındaki suyun buharlaştırılarak kurutulmasında kullanılmaktadır. Bu yöntemde kurutma esnasında genellikle hava ya da inert gaz formdaki azot, taşıyıcı gaz olarak kullanılmaktadır (33). Yöntem prensibi, çekirdek malzemenin sisteme ve ürüne uygun bir kaplama materyali içeren çözelti içerisinde oluşturduğu dispersiyon ve emülsiyon karışımının homojen bir forma getirilmesi ek olarak bu homojen karışımın atomize edilerek kurutma bölmesine gönderilmesi temeline dayanmaktadır (32).

Çekirdek materyali sıcaklığı hızlı buharlaşma sebebi ile 100°C'nin altında tutulmaktadır. Donanım temininin kolay ve işlem maliyetinin diğer yöntemlere göre nispeten daha düşük olması, tekrarlanabilir olması ve endüstriyel uygulamalar için elverişli olması yöntemin avantajlarından sayılmaktadır. Küçük bir uygulama alanına sahip olması, yüksek sıcaklık uygulaması ile yüksek sıcaklığa duyarlı probiyotik bakterilerin canlılıklarının azalabilmesi ise yöntemin temel dezavantajlarını oluşturmaktadır. Bu durumu engellemek için ortama kurutma öncesi koruyucular eklenebilmektedir (32,34).

Bu yöntem, üründe su aktivitesinin azaltılarak mikrobiyal stabilitenin sağlanması, bozulma faktörlerini engelleyerek son kullanma tarihini arttırması ve depolama, taşıma maliyetlerinin azaltılması vb. faydalar sağlamaktadır. İşlem maliyetinin düşük olması ve diğer avantajlar nedeni ile püskürtmeli kurutma yöntemi, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan mikrokapsülasyon yöntemlerinin başında gelmektedir (35). Püskürtmeli kurutma yönteminin kullanıldığı bazı mikrokapsülasyon çalışmaları Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1: Püskürtmeli kurutma yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları

Probiyotik bakteri	Kullanılan materyal	Kaynak
Laktik Asit Bakterileri	Akasya gam	36
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NRRLB-4495, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> NRRLB-442	Maltodekstrin	37
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Dirençli nişasta, inülin	38
<i>Saccharomyces boulardi</i>	Jelatin, peynir altı suyu protein konsantresi, modifiye nişasta, maltodekstrin, bezelye proteini ve gam arabik	39
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Maltodekstrin, keten tohumu müsilajı ve proteini	40
<i>Lactobacillus casei</i>	Yağsız süt	41
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	Yağsız süt, inülin, oligofruktoz, oligofruktoz ile zenginleştirilmiş inülin	42
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Peynir altı suyu proteini	43

2.3.1.2. Dondurarak kurutma: Dondurarak kurutma ya da liyofilizasyon olarak bilinen bu yöntemde öncelikle materyal düşük sıcaklıklarda dondurulmakta sonrasında yüksek vakum altında süblimasyon (katıdan direkt gaza geçiş) ile kurutulmaktadır. Süblimleşme yolu ile ürün içindeki sıvı, gaz halde ortamdan uzaklaştırılmaktadır (44).

Bu yöntem, depolama stabilitesini sağlayabilmek amacı ile probiyotik bakteri hücrelerinden suyu uzaklaştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntem, donma sistemine sahip bir vakum odasından, süblimasyon için gerekli ısıyı sağlayacak olan ısıtma elemanlarından ve su buharını gideren bir sistemden oluşur. İşlem, hücre kültürünün dondurulması, süblimasyon ve son kurutma olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (45). Bu işlemin koşulları spreyle kurutma işleminden daha hafif olduğu için, bu yöntemle kurutulan probiyotik kültürler genellikle daha fazla hayatta kalma durumu göstermektedirler (46).

Dondurarak kurutma işlemi sırasında oluşan kristaller ve yüksek ozmotik basınç, hücre canlılığını etkilediğinden dolayı işlem öncesinde ortama süt tozu, peynir altı suyu proteini, glikoz, maltodekstrin vb. kriyoprotektan özellik gösteren koruyucu kaplama materyalleri dahil edilmektedir (44).

Bu yöntemin sayesinde aroma kayıpları azalmakta elde edilen ürünlerin rekonstitüsyon (eski haline dönebilme) yetenekleri gelişmekte ve gıda içerisinde çözünen maddelerin hareketi sonucu oluşan kayıplar minimize edilmektedir. Bunun aksine yöntemin en büyük dezavantajı ise işlem maliyetinin ve süresinin yüksek

olmasıdır (47). Dondurarak kurutma yönteminin kullanıldığı bazı mikrokapsülasyon çalışmaları Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Dondurarak kurutma yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları

Probiyotik bakteri	Kullanılan materyal	Kaynak
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Peynir altı suyu proteini ve nişasta	48
<i>Lactobacillus plantarum 299v</i>	Mısır nişastası	49
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Fruktooligosakkarit, peynir altı suyu protein izolatu	50
<i>Lactobacillus rhamnosus R011</i>	Peynir altı suyu izolatu	51

2.3.1.3. Emülsiyon: Bu yöntemde temelde iki faz kullanılmaktadır. İşlem sürecinde süreksiz faz olarak değerlendirilen hücre polimer süspansiyonun küçük bir hacmi, sürekli faz olarak değerlendirilen büyük hacimli bitkisel yağa ilave edilmektedir. Sonrasında karışım, yağ içinde su emülsiyonu oluşturmak maksadıyla homojenize edilmektedir. Yağ içinde su emülsiyonu hazır hale geldikten sonra suda çözünür polimerin, yağ fazı içinde küçük jel parçacıkları oluşturması için çözünmez olması gerekmektedir.

Emülsiyon yönteminde mikroorganizma, genellikle sodyum aljinat karışımına ilave edildikten sonra, aljinatın jel içerisinde küresel boncuk oluşturmaya destek olan kalsiyum klorür çözeltisine belli bir akış hızında eklenmektedir. Boncuk oluşumu meydana gelir iken sodyum iyonları ile kalsiyum iyonları yer değiştirmektedir. Böylece suda çözünmeyen ve hücreleri tutuklayan kalsiyum-aljinat boncukları oluşabilmektedir (35). Emülsiyon yönteminin kullanıldığı bazı mikrokapsülasyon çalışmaları Tablo 2.3’te verilmiştir.

Tablo 2.3: Emülsiyon yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları

Probiyotik bakteri	Kullanılan materyal	Kaynak
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Nohut proteini, aljinat	52
<i>Bifidobacterium longum</i>	Aljinat	53
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Aljinat	54
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Kazeinat	55
<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus helveticus</i>	Aljinat	56
<i>Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus brevis</i>	β -glukan, polietilen glikol	57

2.3.1.4. Ekstrüzyon: Ekstrüzyon yöntemi, hidrokolloitler ile kapsül yapımında kullanılan en eski ve en yaygın yöntem olarak bilinmektedir (58). Bu teknoloji genellikle, hava ile çalışan çivileme disk aygıt ve basit iğne damlacık-jeneratörünü içermektedir. Probiyotik hücre ve aljinat karışımının kalsiyum klorür çözeltisi içerisine bir şırınga iğnesi yardımı ile yüksek basınç sayesinde enjekte edilmesi sonucu damlatma işlemi tamamlanmaktadır (35).

Ekstrüzyon tekniğinde destekleyici olarak kullanılan temel materyal, genellikle aljinat olmaktadır (58). Bu yöntem nispeten basit, ucuz ve verimli bir seçenek olarak görülmektedir. Zararlı çözenler içermemesi, aerobik ve anaerobik koşullar altında uygulanabilmesi avantajları arasında yer almaktadır. Buna karşılık dezavantajı ise, yavaş mikro kapsül oluşumu ve bu nedenle büyük ölçekli üretim zorluğudur (35). Ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı bazı mikrokapsülasyon çalışmaları Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4: Ekstrüzyon yönteminin kullanıldığı mikrokapsülasyon çalışmaları

Probiyotik bakteri	Kullanılan materyal	Kaynak
<i>Bifidobacterium longum</i>	Aljinat	53
<i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Peynir altı suyu proteinleri	59
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Aljinat ve hi-maize (dirençli nişasta)	60
<i>Lactobacillus lactis subsp cremoris MG1363</i>	Sodyum aljinat	61
<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Karragenan	62
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Aljinat, kitosan, jelatin, pektin, karragenan, keçiyoynuzu gamı	63

2.4. MİKROKAPSÜLASYON TEKNIĞİ KULLANILARAK YENİ PROBİYOTİK FONKSİYONEL GIDALARIN GELİŞTİRİLMESİ

2.4.1. Mikrokapsüle Probiyotik Mikroorganizmalar İle Üretilen Süt Kaynaklı Olmayan Gıdalar

Süt ve süt ürünleri, probiyotik takviyesi için ana hammadde kaynağı olarak bilinmektedir. Bununla birlikte, süt ve türevlerinin doymuş yağ asidi, yüksek kolesterol, laktoz intoleransı ve alerjik süt proteinleri içermesi belirli bir popülasyon için temel endişe faktörlerini oluşturmaktadır (64). Bu nedenle son yıllarda süt ürünü olmayan

probiyotik gıdalar tüketici talepleri katkısı ile de daha fazla ilgi görmektedir. Son yıllarda süt bazlı probiyotiklerin dezavantajlarını hafifletmek ve faydalı mikroorganizmaları insanlara ulaştırmak için yeni süt ürünü olmayan gıda matrislerinin potansiyelini araştıran çalışmalar literatürde geniş yer bulmaya başlamıştır (65).

Muthukumarasamy ve Holley, aljinat ile mikrokapsüle edilen *L. reuteri* kültürünü içeren fermente kuru sosisi duysal ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirmiştir. Araştırma sonucunda, kontrol grubunda (kurutma işlemi ile mikrokapsüle edilmemiş *L. reuteri* içeren kuru fermente sosis) 2,6 log kob/g azalma olduğu görülür iken, mikrokapsüle kültürü içeren kuru sosiste ise 0,5 log kob/g azalma olduğu görülmüştür. İki grup arasında duysal açıdan önemli bir farklılık tespit edilmemiştir (66).

Sodyum aljinat çözeltisine (%0,3), 10,5 log kob/mL düzeyinde *L. plantarum* BL011, 24 kilovolt voltaj altında mikrokapsüle edilmiş ve portakal suyuna 10 log kob/200 mL oranında ilave edilmiştir. Kapsül form ve serbest form yapay mide ve bağırsak sıvısında incelenmiştir. Kapsül form, yapay bağırsak sıvısında 9,2 kob log/mL canlılık gösterir iken serbest form 4,5 log kob/mL canlılık göstermiştir. Bunun yanı sıra kapsül form ve serbest form arasında duysal özellik açısından önemli bir farklılık görülmemiştir (67).

Akasya sakızı kullanılarak püskürtmeli kurutma yöntemi ile kapsüle edilen dört termotolerant Laktik Asit Bakterileri (LAB) pişmiş et ezmesine ilave edilmiştir. Buzdolabı sıcaklığında depolama sonunda kontrol grubuna kıyasla, kapsüle formda LAB içeren grupta *Enterobacteriaceae* hücreleri azalır iken başlangıç LAB sayısının arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte kapsül form içeren ezmelerde kızarıklığın ve parlaklığın da azaldığı görülmüştür (36).

Maltodekstrin ile kaplanarak spreyci kurutma yöntemi ile kapsüle edilen *L. acidophilus* NRRLB-4495, *L. rhamnosus* NRRLB-442 hücrelerinin ahududu suyuna inoküle edilerek kurutulduğu bir çalışmada, mikrokapsülasyon teknolojisi sayesinde yüksek kurutma sıcaklığına karşı probiyotik mikroorganizmaların canlı kalabilme oranının arttığı bildirilmiştir (37).

Mikrokapsüle formdaki *L. paracasei* L26'nin düşük pH değerine sahip şeftali ve portakal suyunda depolama sonrası (5°C ve 50 gün) canlılığını inceleyen bir çalışmada, her iki içecekteki asidik koşullara rağmen kapsüle formdaki probiyotik bakterilerin iyi

canlılık gösterdiği saptanmıştır. Aljinat ile çift veya tek kaplamanın *L. paracasei* L26 için uygun bir bariyer olduğu belirtilmiştir, her iki formda da canlılık yaklaşık 9 log kob/mL olarak saptanmıştır (68).

Serbest ve kapsüle formdaki *L. rhamnosus* GG'nin eşit miktarda kakao pulpundan üretilen içeceğe inoküle edildiği bir çalışmada içeceklere fermentasyon (37°C ve 24 saat) uygulanmıştır. Fermentasyon sonrası kapsüle form içeren içekte probiyotik mikroorganizma sayısı 10,66 log kob/mL düzeyinde bulunur iken, serbest form içeren içekte probiyotik mikroorganizma sayısı 8,83 log kob/mL bulunmuştur. Yapay mide ve bağırsak sıvısında yalnızca sodyum aljinat ile elde edilen kapsüle form ve serbest forma kıyasla, sodyum aljinat ve gum arabik ile elde edilen kapsüle form içeren içekte probiyotik mikroorganizma sayısı daha yüksek saptanmıştır (69).

Aljinat-kitosan ile kapsüle edilen *L. acidophilus* ve *L. reuteri* ilavesiyle probiyotik şeftali nektarının geliştirildiği bir çalışmada, aljinat-kitosan boncuklarının asidik koşullar altında dahi probiyotik bakterilerin canlılığını koruyabildiği gösterilmiştir. Güçlü bir fonksiyonel içecek elde edebilmek için *Laktobacil* kombinasyonu kullanmanın mantıklı bir seçenek olacağı önerilmiştir (70).

Yapılan bu çalışmalar sonucunda, probiyotik kültürlerin gıda içerisinde ve/veya in vitro koşullarda hedef düzeylerde canlı kalabilmesi ve olumsuz çevre koşullarından korunabilmesi için mikrokapsülasyon teknolojisinin uygulanması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

2.4.2. Mikrokapsüle Probiyotik Mikroorganizmalar İle Üretilen Hububat Bazlı Gıdalar

Tarih boyunca insanlar, beslenmesinde fermente tahıl ürünlerine yer vermiştir. Modern yaşamda da hububatlar, ekmek, bisküvi, kek ve pasta gibi fırıncılık ürünleri günlük tüketimde vazgeçilmez beslenme kaynaklarını oluşturmaktadır. Hububatlar, protein, karbonhidrat, vitamin, mineral açısından zengin ve prebiyotik özellik gösteren önemli bir diyet lifi kaynağıdır (28,71).

Özellikle hububat substratlarında probiyotik mikroorganizmaların gelişmesiyle elde edilen gıdaların tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar, obezite, tip 2 diyabet ve bazı kanser türleri gibi hastalıklar ile mücadelede önemli rolü olduğuna vurgu yapılmaktadır. Bunun sebebi, hububatların probiyotikler tarafından kolay bir şekilde

parçalanabilen bir besin grubu olduğuna dayandırılmaktadır (72,73). Bu sebeplerden dolayı tüketicilerin yoğun şekilde tercih ettiği hububatlar fonksiyonelliğin kazandırılabilceği en uygun kaynak olarak görülebilmektedir (28,74).

Probiyotik mikroorganizmalar ile geliştirilen hububatlarda, fırıncılık ürünlerinde pişirme sonrası mikroorganizma canlılığı istenilen düzeyde korunamamaktadır (75). Bu durum pişirilerek üretilcek olan gıdalara probiyotik özellik sağlama aşamasında mikrokapsülasyon teknolojisine duyulan gereksinimi artırmaktadır. Çünkü bu teknoloji ile probiyotik mikroorganizmalar ısıtılma işlemine karşı korunabilmektedir. Bu sayede mikrokapsülasyon, yüksek sıcaklığa dayanıklı probiyotik özellik gösteren hububat bazlı yeni fonksiyonel gıdaların oluşmasına yön verebilmektedir (76). Mikrokapsüle probiyotik bakteriler kullanılarak geliştirilen hububat bazlı gıdalara ait örnek çalışmalar Tablo 2.5’te verilmiştir.

Tablo 2.5: Mikrokapsüle probiyotik bakteriler kullanılarak geliştirilen hububat bazlı gıdalara ait örnek çalışmalar

Ürün	Probiyotik bakteri	Kullanılan materyal	Kaynak
Bisküvi	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>R011</i>	Peynir altı suyu izolatu	51
Tava ekmeği	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Sodyum aljinat, sodyum aljinat-peyniraltı suyu proteini	77
Kek	<i>Lactobacillus casei</i>	Kalsiyum aljinat, kalsiyum aljinat ve dirençli nişasta	78
Yulaf sütü	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Nişasta ve selüloz	79

2.5. PROBİYOTİK TAŞIYICISI OLARAK NOHUT

Baklagillerde yüksek miktarda değerli protein bulunmak ile birlikte bu proteinler yüksek besleyici özelliklere sahiptir. Bunun yanı sıra baklagil proteinlerinin oksidasyon önleyici etkisi de mevcuttur. Bu nedenle nutrasötik madde ve fonksiyonel gıda üretiminde de başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Nohut proteinlerinin biyoaktif bileşiklerin kapsüllemesi için kullanılmalarında temel sebep, GRAS (Generally Recognized as Safe - Genellikle Güvenli Olarak Tanınan) statüsünde olmaları ve baklagil türevli proteinlerin emülsifiye edici özelliklere sahip olmalarından ileri gelmektedir (80).

Diyet lifi açısından zengin bir gıda olan nohut; kalsiyum, demir, magnezyum gibi mineraller, B12 haricindeki diğer B grubu vitaminleri ve E vitamini gibi vitaminler açısından da zengin bir kaynak olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm bu özellikler değerlendirildiğinde nohut; laktoz intoleranslı bireyler, çölyak hastalığına sahip bireyler ve vejetaryen bireyler için sağlıklı bir alternatif olmaktadır (81). Nohudun besin içeriği Tablo 2.6’da verilmiştir (82).

Nohudun kavrulma ve dinlendirme adımlarıyla elde edilen leblebide, protein ve nişasta sindiriminin nohuda göre daha fazla olduğu bilinmektedir. Leblebi, %30-60 nişasta içermektedir. Buna karşın nohudun glikemik indeksi ortalama 25 gibi düşük bir değerde seyretmektedir. Bu durum, kan glikoz seviyesindeki ani yükselmeleri önlemektedir (83).

Fonksiyonel özellikleri, yüksek besin değeri, antioksidan içeriği, doğal olması ve başlangıç kültürünü olumsuz etkileyecek mikroorganizmalar barındırmaması sayesinde nohut, mikrokapsülasyon proseslerinde ideal bir matriks olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda prebiyotik bir gıda olan nohut, gastrointestinal sistemin olumsuzluklarına karşı probiyotik mikroorganizmalara koruma sağlamaktadır (81).

Nohutta bulunan başlıca proteinler, tuzlu ortamda çözünebilen globülin tipi depolama proteinleri olan legumin ve visilindir. Bu proteinlerin alerjenik özelliklerinin az olması mikrokapsülasyon uygulamasında kullanılmasının bir başka olumlu yanını oluşturmaktadır (34,52).

Tablo 2.6: Nohutun besin içeriği

Bileşen	Birim	Ortalama değer (100 gramda)
Enerji	kkal	334
Protein	g	18,56
Yağ, toplam	g	5,33
Karbonhidrat	g	41,35
Diyet lifi, toplam	g	23,03
Potasyum	mg	1171
Magnezyum	mg	139
Kalsiyum	mg	99
Demir	mg	5,92
Niasin	mg	3,146
Tiamin	mg	0,572

kkal: kilokalori, g: gram, mg: miligram

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Çalışmada probiyotik bakteri olarak ATA BİO Teknoloji'den kullanıma hazır olarak temin edilen *L. bulgaricus* ATA-DBL980012, *L. plantarum* ATA-LPC98052 ve *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Türkiye) hücrelerinden oluşan kapsüle LLB Mix LTYS -1012021 kullanılmıştır.

Probiyotik mikrokapsüllerin üretiminde kullanılan nişasta (Sigma 9005-84-09) ve sodyum aljinat (Sigma Alfred 9005-38-3) firmasından temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olarak Sigma (Taufkirchen, Almanya) veya Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan leblebiler ise Serinhisar Kuruyemiş firmasına ait TR-20-K-010266 işletme kayıt numaralı 5 kg miktarında paketli şekilde ticari satışa sunulan sarı leblebilerdir (Tablo 3.1). Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje no: 2022/167) tarafından desteklenmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan leblebinin etiket bilgileri

Bileşen	Birim	100 g	Bir porsiyon (28 g)
Enerji	kkal	391	109,48
Protein	g	20,94	5,86
Yağ, toplam	g	7,22	2,02
-Doymuş yağ	g	6,18	1,73
-Doymamış yağ	g	1,01	0,028
Kolesterol	g	0	0
Karbonhidrat	g	60,5	16,94
Diyet lif	g	6,65	1,86

kkal: kilokalori, g: gram

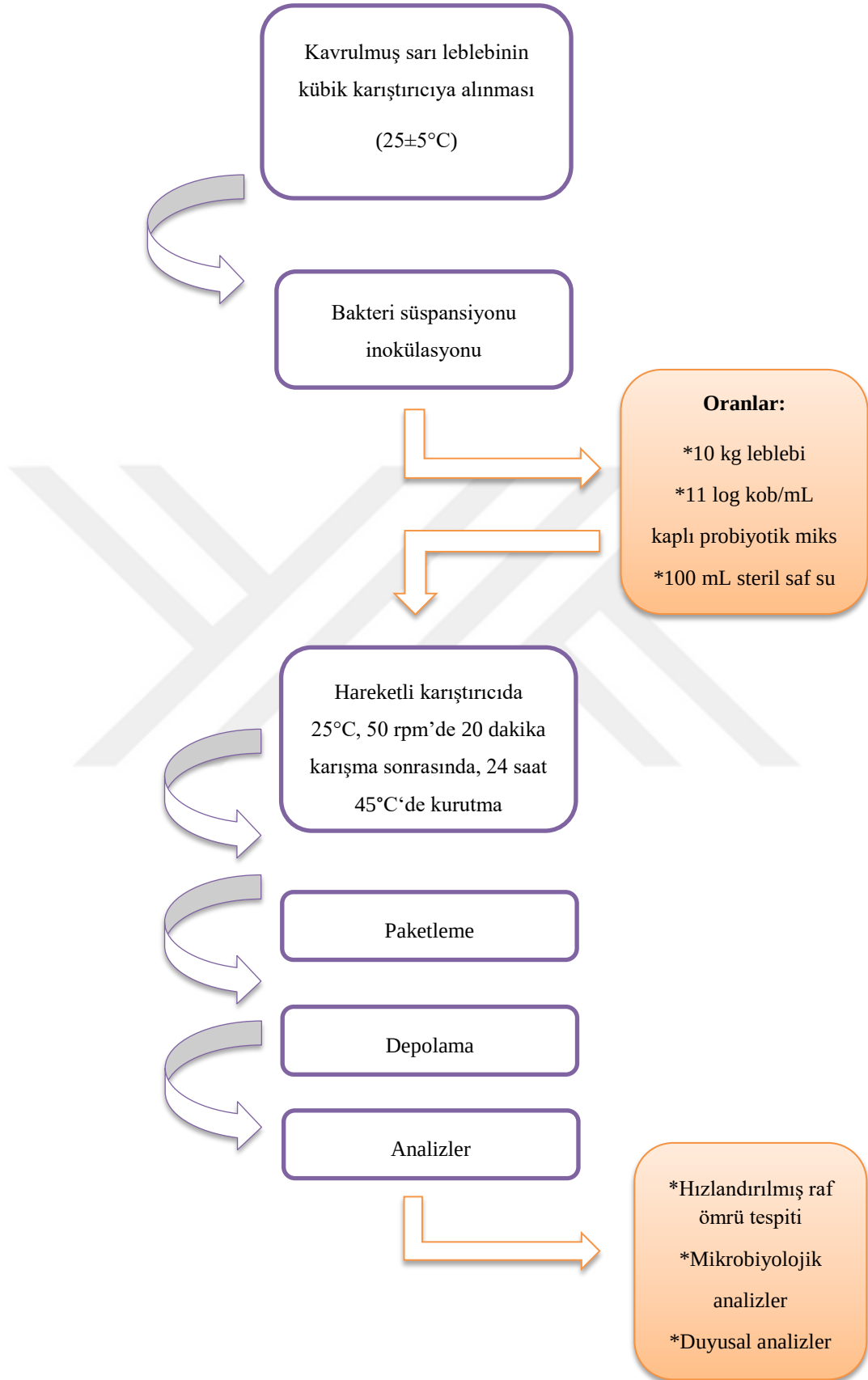
3.2. YÖNTEM

3.2.1. Emülsiyon Metodu İle Probiyotik Mikrokapsüllerin Üretilmesi

Çalışmamız için ATA BİO Teknoloji'den kullanıma hazır ticari ürün olarak *LLB Mix LTYS-1012021* tercih edilmiştir. Kullanılan ürün (*LLB Mix LTYS -1012021*), 5 mg (%0,1/11,69 log kob/g) düzeyde olup, emülsiyon yöntemi ile kaplanmış özel formdadır. Bu çalışmaya özgü üretilen liyofilize form kullanıma hazır olup, leblebi kaplaması için kullanılmıştır.

3.2.2. Probiyotik Leblebi Üretimi

Probiyotik leblebi üretimi, SFA Arge ve Özel Sağlık Hiz. Ticaret Ltd. Şti. tarafından Sağlık Bilimleri Üniversitesi Teknoloji Geliştirme Bölgesi Sağlık Teknokenti A.Ş. kurumunda yapılmıştır. Çalışmada kavrulmuş sarı leblebiler kullanılmıştır. Leblebiler $25\pm5^{\circ}\text{C}$ koşulunda kübik karıştırıcıya konuldu. Leblebi örneklerinin üzerine bakteri süspansiyonu (yaklaşık 11 log kob/mL kaplı bakteri miksi, 100 mL steril saf su) basit spreyleme ile spreylendi. Püskürtme sonrası leblebi üzerinde bulunan probiyotik karışım hareketli karıştırıcıda, 25°C 'de 50 rpm'de 20 dakika karıştırıldı. Karışma sonrasında, 45°C 'de 24 saat sabit kurumaya bırakıldı. Kurutma sıcaklığı maksimum 55°C olmalıdır. Aksi takdirde probiyotik mikroorganizma canlılığı ısıdan olumsuz etkilenebilmektedir. Probiyotik leblebi üretim akış şeması Şekil 3.1'de, probiyotik leblebi örneklerine ait görseller ise Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.1: Probiyotik leblebi üretim akış şeması



Resim 3.1: Probiyotik leblebi örneklerinin görünümü

3.2.3. Probiyotik Leblebi Örneklerine Yapılan Analizler

3.2.3.1. Hızlandırılmış raf ömrü tespiti: Bu çalışmada elde edilen probiyotik leblebi örneklerine hızlandırılmış yaşlandırma testi uygulanmıştır. Hızlandırılmış stabilite testleri, ürünün daha yüksek sıcaklıklara maruz bırakılarak normal depolama koşulları ile ilgili daha kısa sürede sonuç almaya olanak tanımaktadır. Elde edilen veriler Arrhenius ve Q10 modeli kullanılarak yüksek sıcaklıklarda reaksiyon hızında meydana gelen artış ile açıklanabilmektedir. Ürün için önemli kalite parametrelerinden olan raf ömrünün tahminlenmesinde birçok yaklaşım kullanılmaktadır (84,85). Çalışmamızda probiyotik leblebi örnekleri için 360 gün raf ömrü hedeflenmiş ve aşağıda verilen uyarlanmış Arrhenius denklemi ile bu raf ömrünü sağlama durumu tespit edilmiştir.

Uyarlanmış Arrhenius denklemi formülü:

$$1) AAF = Q_{10} \cdot (TAA - TRT) / 10$$

$$2) AAT = RT / AAF \quad (1)$$

AAF: Faktör

Q₁₀: Arrhenius sabiti, 2 olarak kabul alınır.

TAA: Hızlandırılmış test ortam sıcaklığı (°C)

TRT: Depolama/satış sıcaklığı (°C)

AAT: Hızlandırılmış test süresi (gün)

RT: Hedeflenen raf ömrü (gün)

3.2.3.2. Mikrobiyolojik analizler: Probiyotik leblebi örneklerinin mikrobiyolojik analizinde probiyotik bakteri sayımı üç farklı sıcaklıkta (0°C, 25°C ve 40°C) 120 gün depolama boyunca 0. gün, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 10. hafta ve 3., 4. aylarında 10 çalışma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Probiyotik bakteri sayım sonuçları logaritmik değerleri alınarak kaydedilmiştir.

3.2.3.2.1. *Lactobacillus spp.* sayımı: Bu çalışmada *Lactobacillus spp.* sayımı için dökme plak yöntemi ile paralel ekim tekniği kullanılmıştır. Probiyotik leblebi (10 g), 90 mL peptonlu su (%0,85 NaCl ve %0,1 pepton) ile seyreltilmiştir. Dilüsyon stomacherda homojenize edilmiştir. Besiyeri, Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRS agar) (Difco) pH 6,4±0,2 kullanılarak hazırlanmıştır. Dilüsyonları hazırlanan örneklerden 1'er mL alınarak steril petri kabına eklenmiştir. Üzerine 45-50°C'de bekletilen steril besiyerinden 12-15 mL kadar ilave edilmiş ve petri kapları rotasyon hareketi ile karıştırılmıştır. İnokülasyon sonrası petri kapları, 37°C±1°C'de ters çevrilmiş olarak 72 saat anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası oluşan koloniler (kob/g) sayılmıştır. Probiyotik bakteri sayımı, depolama boyunca 10 çalışma ile sürdürülmüştür. Hücre sayımları, 30-300 koloni içeren plaklardan elde edilen sayımların matematik ortalaması dikkate alınarak aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (86).

Probiyotik mikroorganizma sayımında kullanılan formül:

$$N = \text{Toplam C} / [V * (n_1 + 0,1 * n_2) * d] \quad (2)$$

N: Gıda örneğinin 1 g'ında bulunan mikroorganizma sayısı

C: Sayımı yapılan tüm petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

V: Sayımı yapılan petri kutularına aktarılan hacim (mL)

n_1 : İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

n_2 : İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

d: Sayımın yapıldığı ardışık 2 seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranı

3.2.3.2.2. *Bacillus subtilis* spp. sayımı: Bu çalışmada toplam canlı sayımı ISO 4833-1:2013 kriterlerine uygun olarak, dökme plak yöntemi kullanılarak paralel ekim ile yapılmıştır. Besiyeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA agar) pH 7,3 kullanılmıştır. Probiyotik leblebi (10 g), 90 mL peptonlu su (%0,85 NaCl ve %0,1 pepton) ile seyreltilmiştir. Dilüsyon stomacherda homojenize edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 1'er mL alınarak steril petri kabına aktarılmıştır. Petri kabına besiyeri 12-15 mL miktarında eklenip rotasyon hareketi ile besiyeri ve inokülüm karıştırılmıştır. Besiyeri katılaştıktan sonra petri kutuları ters çevrilmiş olarak 37°C'de 72 saat aerobik inkübasyona tabi tutulmuştur. Inkübasyon sonrası oluşan koloniler (kob/g) sayılmıştır. Bakterilerin sayımına depolama boyunca 10 çalışma ile bakılmıştır (87).

Probiyotik mikroorganizma sayımında kullanılan formül:

$$N = \text{Toplam C} / [V * (n_1 + 0,1 * n_2) * d] \quad (2)$$

N: Gıda örneğinin 1 g'ında bulunan mikroorganizma sayısı

C: Sayımı yapılan tüm petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

V: Sayımı yapılan petri kutularına aktarılan hacim (mL)

n_1 : İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

n_2 : İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

d: Sayımın yapıldığı ardışık 2 seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranı

3.2.3.3. Duyusal analizler: Leblebi örneklerinin duyusal analizinde, renk, tekstür, lezzet, satın alma isteği, genel kabul edilebilirlik olmak üzere 5 kriter ve 9 puanlık hedonik skala içeren anket kullanılmıştır. Bu hedonik skalanın puanlama karşılıkları; “9: mükemmel, 8: çok iyi, 7: iyi, 6: iyinin altı ortanın üstü, 5: orta, 4: ortanın altı kötünün üstü, 3: kötü, 2: çok kötü, 1: son derece kötü” olarak kullanılmıştır. Duyusal analiz, Sağlık Bilimleri Üniversitesi öğrencilerinden oluşan 72 kişilik eğitimli panelist tarafından yürütülen panel ile gerçekleştirilmiş ve 5 üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirilmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinin duyusal analizi anına ait görsel Şekil 3.3’te verilmiştir. Duyusal test aşamasında kullanılan duyusal anket formu EK’te verilmiştir.



Resim 3.2: Probiyotik leblebi örneklerinin duyusal analizi

3.2.3.4. İstatistiksel analizler: İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 26.0 paket programı ve MS-Excel 2010 programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

İstatistiksel analiz aşamasında öncelikle verilerin dağılım türüne bakılmıştır. Verilerin dağılım türünü test etmek amacıyla normallik testi uygulanmıştır. Test sonucu verilerin dağılımlarını anlamlandırmak için Skewness (çarpıklık) ve Kurtosis (basıklık)

değerleri incelenip analiz edilmiştir. Toplanan verilere uygulanan normallik testi sonucu Skewness (çarpıklık) ve Kurtosis (basıklık) değerleri ± 2 arasında ise verilerin normal dağıldığına karar verilmiştir (88).

Normal dağılım gösteren verilerin analizi için parametrik testler kullanılmıştır. Probiyotik leblebi örneklerinin mikrobiyolojik analizinde farklı sıcaklık değerlerinde (0, 25 ve 40°C) elde edilen ölçümlerin istatistiksel karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arasında önemli farklılık olduğu belirlenen değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında homojenlik olan veriler için Bonferroni, homojenlik olmayan verilerde ise Games Howell metodu tercih edilmiştir. Belirlenen sıcaklık için farklı ölçüm zamanlarında elde edilen probiyotik leblebi örneklerinin ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında ise tekrarlı ölçümler için (repeated measures) ANOVA testi kullanılmıştır. Bu kısımda önemli farklılık olduğu belirlenen değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında Bonferroni metodu tercih edilmiştir (89). Çalışmanın mikrobiyolojik analiz sonuçlarına ait değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm ss$) değerleri verilmiştir.

Probiyotik leblebi örneklerinin duyuşal analizden elde edilen verilere yalnızca yüzde analizi uygulanmıştır. Çalışmanın duyuşal analiz sonuçlarına ait değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde % (yüzde) ve n (katılımcı sayısı) değerleri verilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada hazırlanan probiyotik leblebi örnekleri 0°C, 25°C ve 40°C’de 4 ay boyunca depolanmıştır. Depolamada 0°C buzdolabı koşullarını temsil eder iken 25°C oda sıcaklığı koşullarını temsil etmektedir. Buna ek olarak depolamada 40°C ise eskitme sıcaklığını temsil etmek ile beraber bu sıcaklıkta gerçekleştirilen analizler hedef raf ömrünü teyit etme aşamasında kullanılmıştır. Depolamanın 0.gün, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 10. hafta ve 3., 4. aylarında leblebilerden alınan örneklerle mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara aşağıda yer verilmiştir.

4.1. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

4.1.1. Probiyotik Leblebi Örneklerinde Bulunan Probiyotik Mikroorganizmanın Depolama Stabilizasyonu

Leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların depolama stabilizasyonu, 0°C ve 25°C koşullarında test edilmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinde depolama sürecinde herhangi bir patojen mikroorganizma saptanmamıştır. Leblebi örneklerindeki probiyotik bakteri sayısının 0°C ve 25°C’de depolamadaki değişim sonuçları Tablo 4.1’de, aynı koşullarda depolama süresince probiyotik bakteri değişim grafiği ise Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizmanın depolama stabilizasyonu 4 ay boyunca izlenmiş olup 25°C’de 0.gün yapılan ilk analizde 11,83 log kob/g seviyesinde probiyotik mikroorganizma saptanmıştır.

Oda sıcaklığında depolamanın 4. haftasında probiyotik mikroorganizma sayısı, başlangıç seviyesine göre yaklaşık %98 düzeyinde korunabilmiştir. Depolamanın 4. haftasına kadar probiyotik mikroorganizma sayısında azalma gözlenmiş ve ilk kez 4. haftada yapılan ölçüm sonunda bir artış saptanmıştır. Beşinci haftadan sonra yapılan her ölçümde depolama sonuna kadar probiyotik mikroorganizma sayısında düşük düzeyde bir azalma gözlenmiştir.

Probiyotik mikroorganizma sayısı 6 haftalık depolama sonunda başlangıç seviyesine göre yaklaşık %89 düzeyinde korunabilmiş iken çalışma sonunda tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısı ise, başlangıç seviyesine göre yaklaşık %79 korunabilmiş ve 4. ay sonunda değeri 9,28 log kob/g olarak belirlenmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Depolama sıcaklığı 0°C koşulunda iken depolamanın 4. haftasında probiyotik mikroorganizma, ürünün başlangıç seviyesine göre yaklaşık %98 korunabilmiştir. Yine 0°C koşulunda 6 haftalık depolama sonrası probiyotik mikroorganizma sayısının başlangıç seviyesine göre yaklaşık %97 korunabildiği görülmüştür.

Depolama sıcaklığı 0°C iken depolamanın 10. haftasına kadar probiyotik mikroorganizma sayısında azalma gözlenmiş ve ilk kez 10. haftada yapılan ölçüm sonunda bir artış saptanmıştır. Bundan sonra yapılan her ölçümde depolama sonuna kadar probiyotik mikroorganizma sayısında azalma gözlenmiştir.

Depolama sonunda tamamlanan analiz çalışması sonucu tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısı ile başlangıç seviyesindeki probiyotik mikroorganizma sayısı arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu depolama sıcaklığında hiçbir ölçüm arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçlar doğrultusunda leblebi örneklerinde bulunan mikrokapsüle probiyotik bakteri miksinin 0°C depo koşulunda 25°C depo koşuluna göre daha iyi korunabildiği görülmüştür.

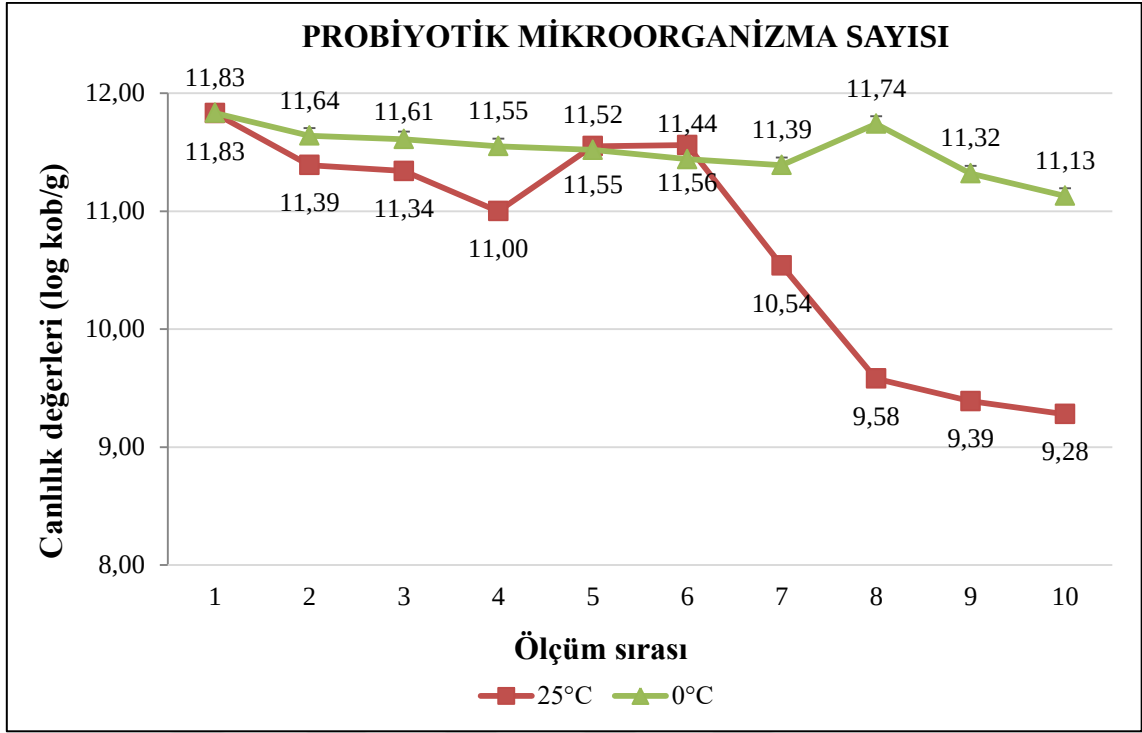
Üretilen probiyotik leblebi örneklerinde probiyotik ürün tanımı için kriter olarak bilinen 6 log kob/g canlılık kriter değeri, her iki sıcaklıkta da depolama süresi boyunca yapılan tüm analizlerde sağlanabilmiştir. Genel olarak depolama sonundaki probiyotik mikroorganizma düzeyleri tüketim anında üründe olması gereken canlı probiyotik mikroorganizma sayısını sağlamış olup leblebinin probiyotikler için uygun bir taşıyıcı gıda matrisi olabileceğini göstermektedir.

Tablo 4.1: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 0°C ve 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişimi

25°C			0°C		
Ölçümler		N	X±ss		N
Sıra	Süre		log kob/g	log kob/g	
1	0. gün	3	11,83±0,03	11,83±0,03	3
2	1. hafta	3	11,39±0,09	11,64±0,09	3
3	2. hafta	3	11,34±0,14	11,61±0,08	3
4	3. hafta	3	11,26±0,00	11,55±0,04	3
5	4. hafta	3	11,55±0,06	11,52±0,07	3
6	5. hafta	3	11,56±0,24	11,44±0,09	3
7	6. hafta	3	10,54±0,06	11,39±0,09	3
8	10. hafta	3	9,58±0,11	11,74±0,04	3
9	3. ay	3	9,39±0,09	11,32±0,02	3
10	4. ay	3	9,28±0,22	11,13±0,13	3

Tablo 4.2: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri

25°C		
Ölçümler		p değeri
1. ölçüm	7. ölçüm	0,006
	8. ölçüm	0,019
	9. ölçüm	0,039
2. ölçüm	7. ölçüm	0,019
	8. ölçüm	0,003
3. ölçüm	8. ölçüm	0,003
4. ölçüm	9. ölçüm	0,035
5. ölçüm	9. ölçüm	0,003



Şekil 4.1: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 0°C ve 25°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişim grafiği

Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C eskitme koşulunda depolama süresi boyunca değişimi Tablo 4.3'te, yine aynı koşullarda depolama boyunca probiyotik değişim grafiği ise Şekil 4.2'de verilmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri ise Tablo 4.4'te verilmiştir.

Depolama sıcaklığı 40°C koşulunda iken depolamanın 4. haftasında probiyotik mikroorganizma sayısı, ürünün başlangıç seviyesine göre yaklaşık %87 korunabilmiştir. Yine bu depolama koşulunda 6 haftalık depolama sonrası probiyotik mikroorganizma sayısına bakıldığında başlangıç seviyesine göre yaklaşık %76 korunabildiği görülmüştür. Depolamanın 10. haftasına kadar probiyotik mikroorganizma sayısında azalma gözlenmiş ve ilk kez 10. haftada yapılan ölçüm sonucunda bir artış saptanmıştır. Örneklerin depolama sonu analiz sonuçları ile başlangıç seviyesindeki probiyotik mikroorganizma sayısı arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Başlangıç

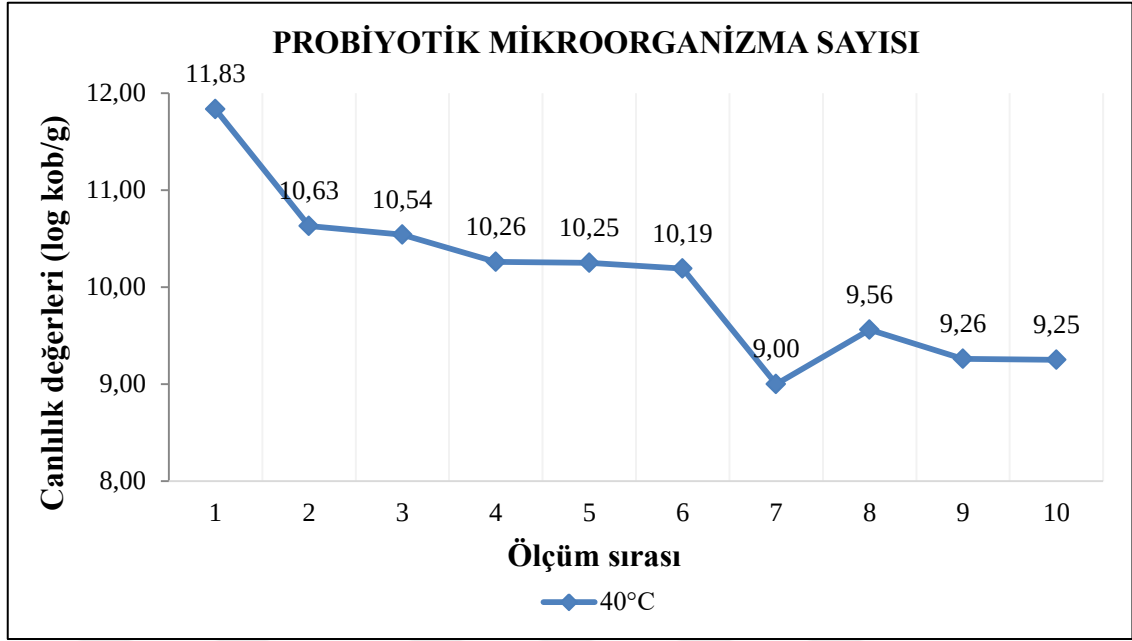
seviyesindeki probiyotik mikroorganizma sayısı depolama sonuna doğru yaklaşık %22 oranında azalarak 9,25 log kob/g olarak kaydedilmiştir.

Tablo 4.3: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C eskitme koşulunda depolama süresi boyunca değişimi

40°C			
Ölçümler		N	X±ss log kob/g
Sıra	Süre		
1	0. gün	3	11,83±0,03
2	1. hafta	3	10,63±0,30
3	2. hafta	3	10,54±0,06
4	3. hafta	3	10,26±0,24
5	4. hafta	3	10,25±0,05
6	5. hafta	3	10,19±0,11
7	6. hafta	3	9,00±0,00
8	10. hafta	3	9,56±0,24
9	3. ay	3	9,26±0,24
10	4. ay	3	9,25±0,05

Tablo 4.4: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C depo koşulunda depolama süresi boyunca değişiminin anlamlılık verileri

40°C		
Ölçümler		p değeri
1. ölçüm	3. ölçüm	0,006
	5. ölçüm	0,043
	7. ölçüm	0,002
	10. ölçüm	0,016
2. ölçüm	9. ölçüm	0,033
3. ölçüm	7. ölçüm	0,023
5. ölçüm	7. ölçüm	0,024
8. ölçüm	9. ölçüm	0,000



Şekil 4.2: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının 40°C eskitme koşulunda depolama süresi boyunca değişim grafiği

4.1.2. Probiyotik Leblebi Örneklerinde Bulunan Probiyotik Mikroorganizma Sayısının Farklı Sıcaklıklara Göre Değişimi

Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının farklı sıcaklıklara göre değişim sonuçları Tablo 4.5'te verilmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinde depolama süresince herhangi bir patojen mikroorganizma saptanmamıştır. Çalışmamızın bu aşamasında sıcaklık değerleri ile probiyotik mikroorganizma sayısı ortalamaları arasında ters bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Sıcaklık düzeyi arttıkça probiyotik mikroorganizma sayısında azalma kaydedilmek ile birlikte tek anlamlı fark 0°C ve 40°C ortalamaları arasında tespit edilmiştir ($p<0,05$). Sıcaklık değerleri değişimine göre en büyük probiyotik mikroorganizma sayısı ortalaması, en küçük probiyotik mikroorganizma sayısı ortalamasına göre yaklaşık 1,44 log kob/g daha fazla kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda kullanılan probiyotik bakteri karışımı için 0°C depolama koşulunun daha verimli olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.5: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısı ortalamalarının sıcaklık değerlerine göre değişimi

Dereceler	$\bar{X} \pm ss$ log kob/g	Anlamlı fark*	p değeri
0°C	11,51±0,20	0-40°C	0,001
25°C	10,67±0,95		
40°C	10,07±0,93		

Tablo 4.5. probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısı ortalamalarının sıcaklık değerlerine göre değişimini genel hatlarıyla göstermektedir. Elde edilen farklılıkların hangi ölçümler arasında olduğunu görmek amacıyla ölçümler bazında tekrar ANOVA testi uygulanmıştır. Homojenlik olan veriler için Bonferroni, olmayan veriler için ise Games Howell metodu kullanılarak ölçümler arası istatistiksel farklılık değerlendirilmiştir.

Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının sıcaklık değerlerine göre değişiminin ölçümler bazında değerlendirilmesine ait veriler Tablo 4.6’da verilmiştir.

İlk analiz sonucunda sıcaklıklar arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. İkinci ölçümde (1. hafta) 40°C depolama koşullarında probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısı, diğer depolama sıcaklıklarındaki probiyotik mikroorganizma sayısına göre anlamlı şekilde daha düşük seyretmiştir ($p < 0,05$).

Üçüncü ölçümde (2. hafta) tüm sıcaklık koşullarında saptanan probiyotik mikroorganizma sayıları belirgin şekilde farklı olmak ile beraber sıcaklıklar arasında en yüksek probiyotik mikroorganizma sayısı 11,61 log kob/g seviyesi ile 0°C depolama koşulunda karşımıza çıkmıştır.

Dördüncü ölçümde (3. hafta), yine tüm sıcaklık koşullarında saptanan probiyotik mikroorganizma sayıları belirgin şekilde farklı seyretmiştir ve 0°C depolama koşulunda ölçülen probiyotik mikroorganizma sayısı, 40°C depolama koşulunda ölçülen probiyotik

mikroorganizma sayısına göre 1,29 log kob/g daha yüksek seyretmiştir. Bu ölçümde 25°C depolama koşulunda ölçülen probiyotik mikroorganizma sayısı ise 40°C depolama koşullarında ölçülen probiyotik mikroorganizma sayısına göre 1 log kob/g daha yüksek seyretmiştir.

Beşinci ölçümde (4. hafta) 0 ve 25°C arasında anlamlı bir probiyotik mikroorganizma sayısı farklılığı saptanamamıştır. Buna karşılık 40°C depolama koşulunda elde edilen probiyotik mikroorganizma sayısı, 0 ve 25°C depolama koşullarında saptanan probiyotik mikroorganizma sayılarına göre belirgin şekilde daha düşük seyretmiştir (sırasıyla 1,27 log kob/g, 1,30 log kob/g).

Altıncı ölçümde (5. hafta) ise 40°C depolama koşulunda elde edilen probiyotik mikroorganizma sayısı, 0 °C depolama koşullarında tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısına göre 1,25 log kob/g daha düşük seyreder iken 25°C depolama koşullarında ölçülen probiyotik mikroorganizma sayısına göre 1,37 log kob/g daha düşük görülmüştür.

Yedinci ölçümde (6. hafta) 0°C ve 40°C derece arasındaki 2,39 log kob/g birimlik fark, diğer ölçümlere kıyasla 0 ve 40°C arasındaki en büyük probiyotik mikroorganizma sayısı farklılığı olarak karşımıza çıkmıştır. Bu ölçümde 25°C ve 40°C’de tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısı arasında da anlamlı bir farklılık gözlenmiştir.

Sekizinci ölçümde (10. hafta), 25°C ve 40°C depolama koşullarında tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısı arasında herhangi bir anlamlı farklılık gözlenmez iken 0°C depolama koşullarında saptanan probiyotik mikroorganizma sayısı iki sıcaklığa kıyasla anlamlı bir şekilde daha yüksek izlenmiştir.

Sekizinci ölçümde olduğu gibi dokuzuncu (3. ay) ve onuncu ölçümde (4. ay) de benzer durum tespit edilmiştir. Bu ölçümlerde de yalnızca 0°C depolama koşullarında saptanan probiyotik mikroorganizma sayısı, iki sıcaklığa kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek izlenmiştir.

Tablo 4.6: Probiyotik leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının sıcaklık değerlerine göre değişiminin ölçümler bazında değerlendirilmesi

Ölçümler		X±ss (log kob/g)			Anlamlı fark*	p değeri
Sıra	Süre	0°C	25°C	40°C		
1	0. gün	11,83±0,03	11,83±0,03	11,83±0,03	-	-
2	1. hafta	11,64±0,09	11,39±0,09	10,63±0,30	0-40°C	0,002
					25-40°C	0,008
3	2. hafta	11,61±0,08	11,34±0,14	10,54±0,06	0-25°C	0,048
					0-40°C	0,000
					25-40°C	0,000
					0-25°C	0,014
4	3. hafta	11,55±0,04	11,26±0,00	10,26±0,24	0-40°C	0,018
					25-40°C	0,035
5	4. hafta	11,52±0,07	11,55±0,06	10,25±0,05	0-40°C	0,000
					25-40°C	0,000
6	5. hafta	11,44±0,09	11,56±0,24	10,19±0,11	0-40°C	0,000
					25-40°C	0,000
					0-25°C	0,000
7	6. hafta	11,39±0,09	10,54±0,06	9,00±0,00	0-40°C	0,000
					25-40°C	0,000
					0-25°C	0,000
8	10. hafta	11,74±0,04	9,58±0,11	9,56±0,24	0-25°C	0,000
					0-40°C	0,000
9	3. ay	11,32±0,02	9,39±0,09	9,26±0,24	0-25°C	0,000
					0-40°C	0,000
10	4. ay	11,13±0,13	9,28±0,22	9,25±0,05	0-25°C	0,000
					0-40°C	0,000

4.2. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN HEDEF RAF ÖMRÜ TESPİTİ

Bu çalışmada üretilen probiyotik leblebi örnekleri için hedeflenen raf ömrü 360 gün olarak belirlenmiştir. Elde edilen ürünün 360 günlük raf ömrüne ulaşp ulaşmadığını tespit etmek amacıyla leblebi örneklerinde bulunan probiyotik mikroorganizmanın depolama boyunca değişimi 40°C eskitme koşulunda test edilmiştir. Probiyotik leblebi örneklerinde depolama boyunca patojen mikroorganizma saptanmamıştır. Elde edilen veriler sonucu, uyarlanmış Arrhenius denklemi kullanılarak

hızlandırılmış raf ömrü hesabı yapılmıştır. Hızlandırılmış raf ömrü tespiti için hızlandırılmış ortam sıcaklığı 40°C ve rölatif nem %35’de sabit tutulmuştur. Bu kısma ait hesaplamalarda 40°C verilerinden yararlanılmıştır (Tablo 4.3).

4.2.1. Elde Edilen Probiyotik Leblebinin Depolama Koşulu 25°C Olduğu Durumda Hedef Raf Ömrü Tespiti

Uyarlanmış Arrhenius denklemi ile yapılan hesaplama sonucunda 40°C eskitme koşulunda 120 gün sonunda tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısının 25°C’de depolama koşulunda 360 gün raf ömrüne karşılık geldiği görülmektedir. 40°C eskitme koşulunda 120 gün sonunda yapılan son çalışmada canlılık düzeyinin 9,25 log kob/g düzeyinde kaldığı tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Bu değer, probiyotik ürün tanımı için kriter olarak belirlenen 6 log kob/g değerini oldukça aşmış olmak ile beraber bu durum, elde edilen ürünün 25°C’de depolama koşulunda 360 günden daha fazla raf ömrü sunduğunu göstermektedir.

4.2.2. Elde Edilen Probiyotik Leblebinin Depolama Koşulu 0°C Olduğu Durumda Hedef Raf Ömrü Tespiti

Uyarlanmış Arrhenius denklemi ile yapılan hesaplama sonucunda 40°C eskitme koşulunda 56 gün sonunda tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısının 0°C’de depolama koşulunda 360 gün raf ömrüne karşılık geldiği görülmektedir. Bu sonuçlar eskitme koşulları ile tespit edilecek buzdolabı sıcaklığında depolanan ürünün 360 günlük hedef raf ömrüne, oda sıcaklığında depolanan ürünün 360 günlük hedef raf ömrüne göre daha erken sürede ulaşılabilceğini göstermektedir (sırası ile 56 gün, 120 gün).

4.3. PROBİYOTİK LEBLEBİ ÖRNEKLERİNİN DUYUSAL ÖZELLİKLERİ

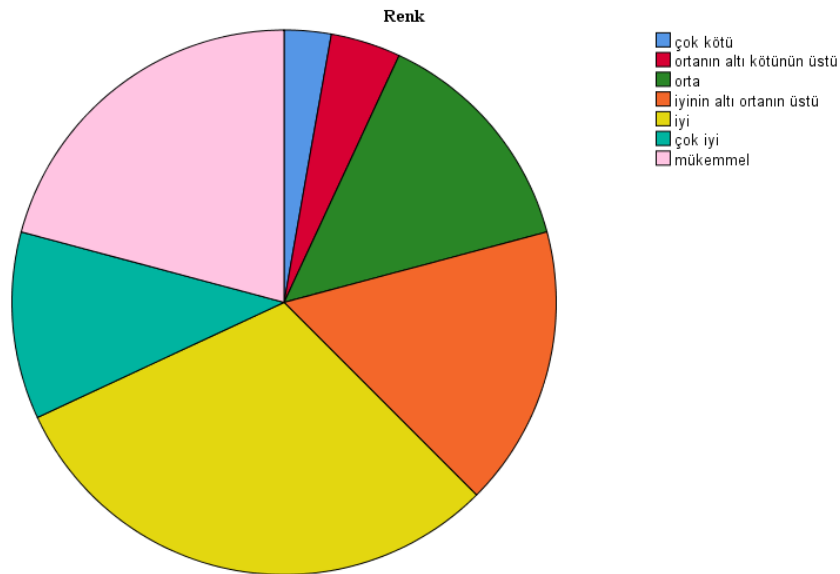
Probiyotik leblebi örneklerinde mikrobiyolojik analizlerin yanı sıra tüketici beğenisini ortaya koymak adına duyuusal muayenelerin de önemi büyüktür. Bu amaçla renk, tekstür, lezzet, satın alma isteği ve genel kabul edilebilirlik özelliklerinin puanlandığı bir duyuusal analiz paneli uygulanmıştır. Örneklerin duyuusal nitelikler açısından almış oldukları puanlamalar Tablo 4.7, Tablo 4.8, Tablo 4.9, Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12’de verilmiştir.

Probiyotik leblebi örneklerinin tüketici beğenisi renk kategorisine değerlendirildiğinde renk özelliğinin büyük oranda (n:22) “iyi” olarak tanımlandığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla “mükemmel” (n:15) ve “iyinin altı ortanın üstü” (n:12) takip etmiştir. Anket sonuçlarına bakıldığında hiçbir katılımcının probiyotik leblebi örneklerinin renk özelliğini “son derece kötü” ve “kötü” olarak değerlendirmedeği tespit edilmiştir.

Tablo 4.7: Probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisine göre analiz sonucu

Renk				
Puan	Görüşler	Sıklık (N)	Yüzde (%)	X±ss
2	çok kötü	2	2,8	6,81±1,65
4	ortanın altı kötünün üstü	3	4,2	
5	orta	10	13,9	
6	iyinin altı ortanın üstü	12	16,7	
7	iyi	22	30,6	
8	çok iyi	8	11,1	
9	mükemmel	15	20,8	
Toplam		72	100,0	

Probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisine göre yüzde analizinin grafiği Şekil 4.3’te verilmiştir.



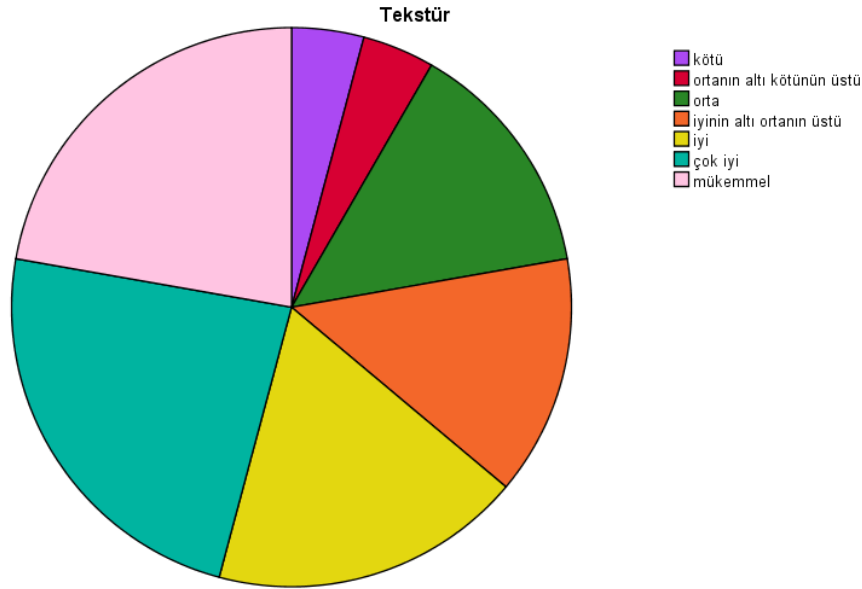
Şekil 4.3: Probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisine göre yüzde analizinin grafiği

Probiyotik leblebi örneklerinin tüketici beğenisi tekstür kategorisine değerlendirildiğinde tekstür özelliğinin büyük oranda (n:17) “çok iyi” olarak tanımlandığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla “mükemmel” (n:16), eşit oranlarla da “iyinin altı ortanın üstü” (n:10) ve “orta” (n:10) takip etmiştir. Anket sonuçlarına bakıldığında hiçbir katılımcının probiyotik leblebi örneklerinin tekstür özelliğini “son derece kötü” ve “çok kötü” olarak değerlendirmedeği tespit edilmiştir.

Tablo 4.8: Probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisine göre analiz sonucu

Tekstür				
Puan	Görüşler	Sıklık (N)	Yüzde (%)	X±ss
3	kötü	3	4,2	6,97±1,70
4	ortanın altı kötünün üstü	3	4,2	
5	orta	10	13,9	
6	iyinin altı ortanın üstü	10	13,9	
7	iyi	13	18,1	
8	çok iyi	17	23,6	
9	mükemmel	16	22,2	
Toplam		72	100,0	

Probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisine göre yüzde analizinin grafiği Şekil 4.4’te verilmiştir.



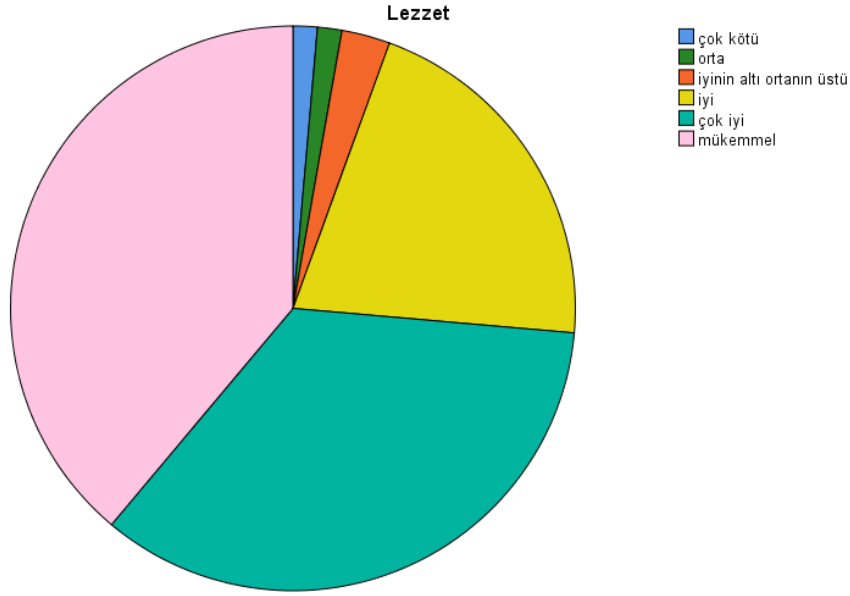
Şekil 4.4: Probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisine göre yüzde analizinin grafiği

Probiyotik leblebi örneklerinin tüketici beğenisi lezzet kategorisine değerlendirildiğinde lezzet özelliğinin büyük oranda (n:28) “mükemmel” olarak tanımlandığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla “çok iyi” (n:25) ve “iyi” (n:15) takip etmiştir. Anket sonuçlarına bakıldığında hiçbir katılımcının probiyotik leblebi örneklerinin lezzet özelliği için “son derece kötü”, “kötü” ve “ortanın altı kötünün üstü” olarak görüş bildirmediği görülmüştür. Bu durumun üretilen probiyotik ürünün kabul edilebilirliği açısından oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.9: Probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisine göre yüzde analiz sonucu

Lezzet				
Puan	Görüşler	Sıklık (N)	Yüzde (%)	X±ss
2	çok kötü	1	1,4	8,00±1,16
5	orta	1	1,4	
6	iyinin altı ortanın üstü	2	2,8	
7	iyi	15	20,8	
8	çok iyi	25	34,7	
9	mükemmel	28	38,9	
Toplam		72	100,0	

Probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisine göre yüzde analizinin grafiği
Şekil 4.5'te verilmiştir.



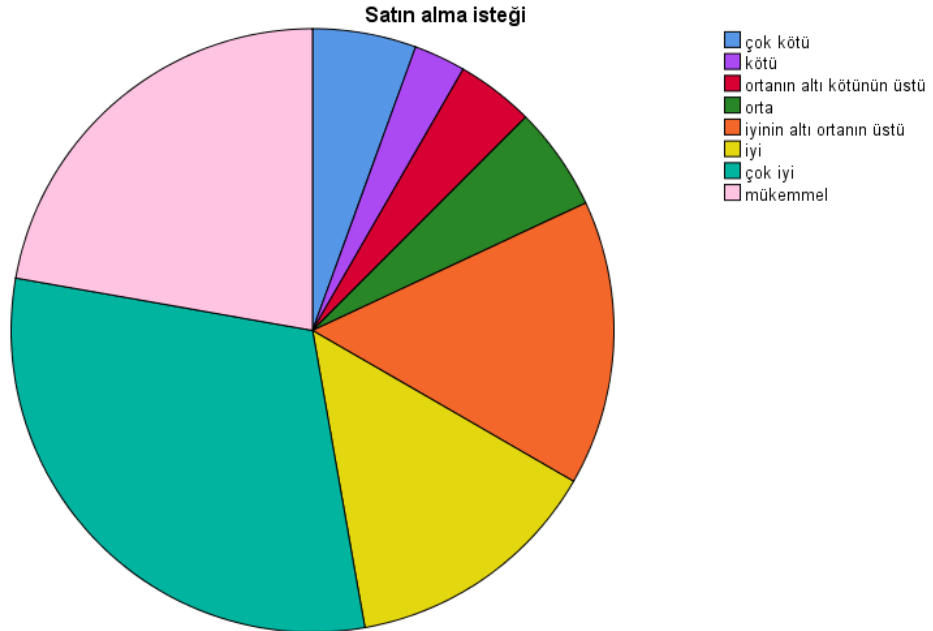
Şekil 4.5: Probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisine göre yüzde analizinin grafiği

Probiyotik leblebi örneklerinin tüketici beğenisi satın alma kategorisine değerlendirildiğinde satın alma özelliğinin büyük oranda (n:22) “çok iyi” olarak tanımlandığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla “mükemmel” (n:16) ve “iyinin altı ortanın üstü” (n:11) takip etmiştir. Anket sonuçlarına bakıldığında hiçbir katılımcının probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği özelliğini “son derece kötü” olarak değerlendirmedeği tespit edilmiştir.

Tablo 4.10: Probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisine göre yüzde analiz sonucu

Satın Alma İsteği				
Puan	Görüşler	Sıklık (N)	Yüzde (%)	X±ss
2	çok kötü	4	5,6	6,97±1,95
3	kötü	2	2,8	
4	ortanın altı kötü'nün üstü	3	4,2	
5	orta	4	5,6	
6	iyinin altı ortanın üstü	11	15,3	13,9
7	iyi	10	13,9	
8	çok iyi	22	30,6	
9	mükemmel	16	22,2	
Toplam		72	100,0	

Probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisine göre analizinin grafiği Şekil 4.6'da verilmiştir.



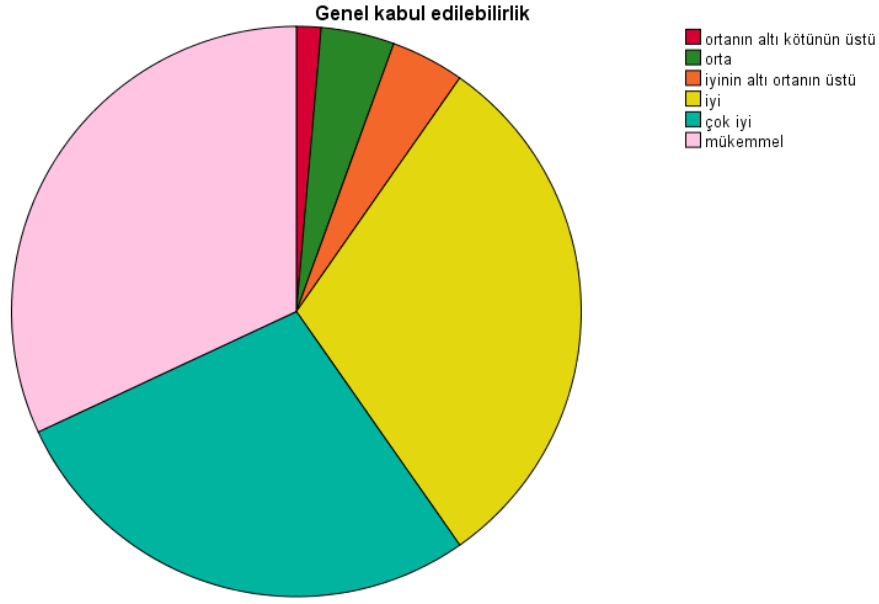
Şekil 4.6: Probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisine göre analizin grafiği

Probiyotik leblebi örneklerinin tüketici beğenisi renk kategorisine göre değerlendirildiğinde genel kabul edilebilirlik özelliğinin büyük oranda “mükemmel” (n:23) olarak tanımlandığı belirlenmiştir. Bunu sırasıyla “iyi” (n:22) ve “çok iyi” (n:20) takip etmiştir. Anket sonuçlarına bakıldığında hiçbir katılımcının probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik özelliğini “son derece kötü”, “çok kötü” ve “kötü” olarak değerlendirmedeği tespit edilmiştir.

Tablo 4.11: Probiyotik leblebi örneklerin genel kabul edilebilirlik kategorisine göre analiz sonucu

Genel Kabul Edilebilirlik				
Puan	Görüşler	Sıklık (N)	Yüzde (%)	X±ss
4	ortanın altı kötünün üstü	1	1,4	7,75±1,15
5	orta	3	4,2	
6	iyinin altı ortanın üstü	3	4,2	
7	iyi	22	30,6	
8	çok iyi	20	27,8	
9	mükemmel	23	31,9	
Toplam		72	100,0	

Probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik kategorisine göre analizinin grafiği Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7: Probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik kategorisine göre analizinin grafiği

Panelistlerin duysal anket formunda yaptıkları puanlandırmalar sonucunda, her bir kategori için minimum, maksimum ve ortalama skorlar verilmiştir (Tablo 4.12). Panelistler tarafından renk kategorisi için verilen ortalama puan 6,81 olarak kaydedilmiştir. Panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, probiyotik leblebi örneklerinin renk kategorisi açısından kabul edilebilir olduğu görülmüştür.

Panelistler tarafından tekstür kategorisi için verilen ortalama puan 6,97 olarak kaydedilmiştir. Paneldeki “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, probiyotik leblebi örneklerinin tekstür kategorisi açısından kabul edilebilir olduğu görülmüştür.

Lezzet kategorisi için verilen ortalama puan 8,00 olarak kaydedilmiştir. Paneldeki “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, probiyotik leblebi örneklerinin lezzet kategorisi açısından kabul edilebilirliğinin yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Panelistler tarafından satın alma isteği kategorisi için verilen ortalama puan 6,97 olarak kaydedilmiştir. Panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak

değerlendirildiğinde, probiyotik leblebi örneklerinin satın alma isteği kategorisi açısından kabul edilebilir olduğu görülmüştür.

Panelistler tarafından genel kabul edilebilirlik kategorisi için verilen ortalama puan 7,75 olarak kaydedilmiştir. Panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik kategorisi açısından kabul edilebilir olduğu görülmüştür.

Tablo 4.12: Probiyotik leblebi örneklerinin tüm kategoriler bazında duyu analizi sonuçları

	N	Minimum	Maksimum	X±ss
Renk	72	2,00	9,00	6,81±1,65
Tekstür	72	3,00	9,00	6,97±1,70
Lezzet	72	2,00	9,00	8,00±1,16
Satın Alma İsteği	72	2,00	9,00	6,97±1,95
Genel Kabul Edilebilirlik	72	4,00	9,00	7,75±1,15

5. TARTIŞMA

5.1. MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER

Literatürde çalışmamızda kullanılan probiyotik bakteri miksinin leblebiye entegre edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın bu kısmında literatürde yer alan diğer bitki bazlı probiyotik gıdaları baz alan çalışmalar ele alınmıştır. Toledo tarafından yapılan bir araştırmada çalışmamıza benzer şekilde mikrokapsüle *L.plantarum* 299v suşu kavrulmuş nohut, badem ve balkabağı tohumları ile aşılanmıştır (30 g tohum + 15 mL bakteri süspansiyonu). Aşılanan ürünler 42°C’de fırında kurutulmuştur. Kurutma sonrası oluşumlar, 4°C, 25°C ve 37°C’de 3 ay boyunca depolanmıştır. Depolama boyunca probiyotik mikroorganizma sayıları tespit edilmiştir ve değerlendirme sonrası en iyi taşıyıcı gıda matriksinin kavrulmuş nohut olduğu belirtilmiştir. Çalışmamıza paralel şekilde depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça probiyotik mikroorganizma konsantrasyonunda düşüş saptanmıştır (90).

Aljinat ile kapsüle edilen *L. acidophilus* PTCC 1643 ve *Bifidobacterium bifidum* PTCC 16449 suşlarının üzüm suyuna inoküle edildiği bir çalışmada, depolama sonrası (4°C ve 60 gün) mikrokapsüle *L. acidophilus* PTCC1643 suşunun canlılık düzeyi 8,67 log kob/mL saptanır iken, mikrokapsüle *Bifidobacterium bifidum* PTCC1643 suşunun canlılık düzeyi ise 8,27 log kob/mL olarak saptanmıştır. Probiyotik mikroorganizma konsantrasyonları başlangıç düzeyine göre sırasıyla 0,98 log kob/mL ve 1,16 log kob/mL düzeyinde azalma göstermiştir. Bu suşlar serbest halde ilave edildiğinde ise başlangıç düzeyinden sırasıyla 1,99 log kob/mL ve 2,11 log kob/mL düzeyinde azalma göstermiştir. Çalışmamıza paralel olarak bu çalışmada da probiyotik mikroorganizmaların konsantrasyonları depolama sonunda azalmakla birlikte mikrokapsülasyon teknolojisinin bakteri canlılığı üzerindeki olumlu etkisi de göze çarpmaktadır (91).

Bifidobacterium Bb-12 suşunun peynir altı suyu ile spreyle kurutularak mikrokapsüle edildiği bir çalışmada, buzdolabı sıcaklığında (4°C) 12 hafta depolanan mikrokapsüller depolama boyunca canlılıklarını sürdürebilmiştir (>6 log kob/g). Serbest hücreler pH 2’de 1,51 log kob/g azalma gösterir iken kapsüllenmiş hücreler 0,73 log kob/g azalma göstermiştir (p<0,05). Bu durum mikrokapsülasyon teknolojisinin düşük

pH koşulundaki koruyuculuğunu göstermektedir. Aynı mikrokapsüller tatlı içerisine eklenerek 4°C’de 6 hafta depolanmıştır. Probiyotik mikroorganizma sayısı depolama boyunca 1,16 log kob/g azalmakla birlikte her ölçümde 7 log kob/g üzerinde seyretmiştir (43).

Ekstrüzyon metodu ile bitkisel özler ve sodyum-aljinat kullanılarak kapsüllenen *L. casei* 01 hücrelerinin yaban mersini suyuna eklenerek buzdolabı koşullarında 30 gün boyunca depolandığı bir çalışmada, yeşil çay özü ve sodyum-aljinat ile kaplanan probiyotik mikroorganizmaların depolama boyunca sayısı 9,5 log kob/mL seviyesinden 5,8 log kob/mL seviyesine düşer iken kaju özü ve sodyum-aljinat ile kapsüllenen probiyotik mikroorganizmaların depolama boyunca sayısı 9,7 log kob/mL seviyesinden 5,1 log kob/mL seviyesine düşmüştür ve kapsülenmiş mikroorganizmalar yalnızca 25 gün canlılığını koruyabilmiştir. Serbest hücreler ise 20. gün canlılık kriterinin altında tespit edilmiştir (5,8 log kob/mL) (92).

Lactobacillus salivarius spp. *salivarius* CECT 4063 hücrelerinin serbest formda ve kapsüllenenek mandalina suyuna entegre edildiği araştırmada da örnekler 4°C’de 10 gün boyunca in vitro sindirim koşullarına maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda her durumda gün sayısı arttıkça bakteri konsantrasyonun azaldığı ve kapsüle probiyotik mikroorganizmaların serbest forma kıyasla daha yüksek canlılık verimi sağladığı bildirilmiştir (93).

Pastörize mango suyuna eklenen ekstrüzyon yoluyla kapsüllenmiş *L. plantarum* TISTR 050 hücresi, 4°C’de 35 gün boyunca depolanmıştır. Mango suyundaki kapsüle *L. plantarum* TISTR 050, depolama başında 8,56 log kob/mL seviyesinde iken depolamanın 28. gününde 5,83 log kob/mL düzeyine düşmüştür. Bu çalışma bakteri canlılığının kapsüllenmiş durumda yalnızca 25 gün korunabildiğini, serbest hücrelerin ise depolamanın hiçbir gününde varlığını koruyamadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise kapsüllenmiş bakteri miksi, 120 gün depolama boyunca canlılık kriterini sağlayabilmiştir (94).

Miranda ve ark., *L. casei* 01 suşunu direkt, yayma yöntemiyle aktiveleştirilmiş olarak ve aljinatla kapsüllenmiş olmak üzere 3 farklı şekilde portakal suyuna inoküle ettiği ve 7°C’de 28 gün boyunca depolayarak probiyotik mikroorganizma sayısını değerlendirdikleri araştırmada, ticari kültürün direkt olarak eklenmesinin en uygun

yöntem olduğu ve probiyotik mikroorganizma seviyesinin 6 log kob/mL üzerinde seyrettiği bildirilmiştir (95).

Dondurarak kurutma yöntemi ile mikrokapsüle edilen *L. plantarum* MTCC 5422 hücrelerinin erişte yapımında kullanıldığı bir araştırmada erişte hamuru iki farklı (28°C ve 55°C) sıcaklıkta kurutulmuştur. Kurutma sıcaklığı 28°C iken probiyotik mikroorganizma sayısı 9,85 log kob/g seviyesinden 8,45 log kob/g seviyesine düşer iken, kurutma sıcaklığı 55°C olduğunda probiyotik mikroorganizma sayısı 6,81 log kob/g seviyesine azalmıştır. Pişirme sonunda ise (3,5 dakika) probiyotik mikroorganizma tespit edilememiştir (50).

Seyedain-Ardabili ve ark., emülsiyon yöntemi kullanılarak nişasta ve aljinat ile kapsüle edilen *L. acidophilus* LA-5 ve *L. casei* 431 hücrelerini hamburger ve tava ekmeği üretiminde kullanmışlardır. Ekmeklerin 180°C’de pişirilmesinden sonra başlangıç seviyesi 11 log kob/g olan *L. acidophilus* LA-5 ve *L. casei* 431 hücrelerinin hamburger ekmeğinde sırası ile 8,3 ve 8,5 log kob/g seviyesine düşer iken, tava ekmeğinde sırası ile 7,2 ve 7,6 log kob/g seviyesine düştüğü saptanmıştır (96). Bu iki araştırmada da çalışmamıza benzer şekilde ortam sıcaklığı ile bakteri canlılık düzeyi arasında ters ilişki olduğunu desteklemektedir (Tablo 4.5).

Sodyum aljinat ve sodyum aljinat-peyniraltı suyu proteini karışımı çözeltisine eklenen *L. rhamnosus* GG suşu, pişirilip soğutulmuş tava ekmeği üzerine film şeklinde kaplandıktan sonra 60°C’de 10 dakika ve 180°C’de 2 dakika kurutulmuştur. Kurutma sıcaklığı arttıkça probiyotik mikroorganizma sayısında azalma meydana gelmiştir. Sodyum aljinat çözeltisinde 60°C’de kurutulan konsantrasyon başlangıçta 7 log kob/g iken 7 günlük depolama sonunda 6 log kob/g düzeyine düşmüştür. Sodyum aljinat-peyniraltı suyu proteini çözeltisinde 60°C’de kurutulan konsantrasyon başlangıçta 8 log kob/g iken depolama sonunda da 8 log kob/g düzeyinde kalmıştır. Bu çalışmada kullanılan kaplama materyalinin ve uygulanan ısı işlem düzeyinin bakteri canlılığına etkisine dikkat çekilmektedir (77).

Zanjani ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada, *L. casei* TCC 39392 emülsiyon yöntemi ile kalsiyum aljinat kullanılarak mikrokapsüle edilmiştir ve bu oluşum kek kreması içine entegre edilerek kek üretiminde kullanılmıştır. Örnekler iki farklı sıcaklıkta (4°C ve 25°C) depolanmıştır. Kek örneklerinin 4°C’de 4 hafta depolanması sonrası serbest *L.casei* hücrelerinin 11 log kob/g düzeyinden 4 log kob/g

düzeyine, kalsiyum aljinat ile mikrokapsüle edilen *L.casei* TCC 39392 hücrelerin ise 7-8 log kob/g düzeyine düştüğü serbest hücrelere kıyasla iki kat daha fazla aktivasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde bu çalışmada da depolama boyunca 4°C’de tespit edilen probiyotik mikroorganizma sayısı 25°C koşulundan yüksek seyretmiştir (78).

Piştirme işlemi öncesi ekmeklerin yüzeyine kapsüllenmiş *L. acidophilus* hücrelerinin spreylendiği araştırmada, mikrokapsülasyon teknolojisinin piştirme işlemi (180°C’de 16 dakika) koşuluna karşı probiyotik mikroorganizmayı koruyabildiğine vurgu yapılmaktadır. İlk gruptaki ekmeklere nişasta içeren mikrokapsül solüsyonu, ikinci gruptaki örnekler nişasta içeren mikrokapsül solüsyonuna ek olarak nişasta solüsyonu, üçüncü gruptaki örnekler ise nişasta solüsyonu, mikrokapsül, nişasta solüsyonu üç katman halinde uygulanmıştır. Piştirme işlemi sonrası en yüksek verimliliğin ikinci gruptaki ekmeklere ait olduğu ve probiyotik mikroorganizma konsantrasyonunun yaklaşık %63 seviyesinde korunduğu tespit edilmiştir. Piştirme sonrası 24 saat depolanan tüm ekmeklerde probiyotik mikroorganizma konsantrasyonunun azalmasına rağmen probiyotik mikroorganizma sayısı kriterinin üzerinde seyrettiği bildirilmiştir (97).

İnülin ve k-karragenan kullanılarak dondurarak kurutma metodu ile kapsüllenen *L. acidophilus* LA-2 suşu ile soya barı geliştirilen bu çalışmada da, soya barı içindeki kapsüle probiyotik mikroorganizma sayısı 4°C ve 25°C’de 14 hafta boyunca tespit edilmiştir. Depolama sıcaklığı 4°C iken 14 hafta boyunca probiyotik mikroorganizma sayısı 8,5 log kob/g üzerinde seyretmiştir. Depolama sıcaklığı 25°C olduğunda ise 12. haftaya kadar probiyotik mikroorganizma sayısı kriteri sağlanır iken 14. hafta probiyotik mikroorganizma konsantrasyonu 6 log kob/g altında seyretmiştir. Çalışma sonucunda benzer şekilde daha düşük depolama sıcaklığında daha yüksek probiyotik mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir (98).

Probiyotik keçiyoynuzu pekmezi üretiminde *L. rhamnosus* suşunun serbest ve kapsüle formda kullanıldığı bir çalışmada, probiyotik keçiyoynuzu pekmezi örnekleri 4 ve 25°C sıcaklıkta 30 gün depolanmıştır. Depolama sonrası 25°C depo sıcaklığında serbest formda probiyotik mikroorganizma içeren pekmez grubunda 7,31 log kob/mL probiyotik mikroorganizma sayısı bulunur iken mikrokapsüle kültür içeren pekmez örneklerinde 7,79 log kob/mL probiyotik mikroorganizma bulunmuştur. Bu çalışmada depolama süresinin *L. rhamnosus* sayısı üzerindeki etkisi yalnızca kapsüllenmiş kültür

ile üretilmiş örnekler için istatistiksel olarak anlamlı bulunmakla birlikte depolama sonunda probiyotik mikroorganizma sayısı 0,63 log kob/mL seviyesinde artış göstermiştir. Ayrıca probiyotik hücre konsantrasyonunda, farklı depolama sıcaklıklarının anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür (99). Bizim çalışmamızda ise depolama süresinin ve sıcaklıklarının probiyotik mikroorganizma konsantrasyonları üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir.

Sprey kurutma yöntemi kullanılarak whey protein izolatu ile kaplanmış *L. rhamnosus* GG mikrokapsüllerinin elma suyunda izlendiği bir çalışmada, elde edilen fonksiyonel içecek 5 hafta boyunca 4°C ve 25°C’de depolanmıştır. Depolama sonunda 4°C’de depolanan örneklerdeki probiyotik mikroorganizma sayısında yarı yarıya bir düşüş görülmekle beraber 25°C’de depolananlarda ise probiyotik mikroorganizma sayısının ilk hafta 2 log kob/mL kadar arttığı daha sonra stabil olarak devam ettiği görülmektedir. Bu çalışmada depolama sıcaklığı artınca depolama sonunda daha yüksek probiyotik mikroorganizma tespit edilmiştir (100). Bu durumun aksine bizim çalışmamızda depolama sıcaklığı artınca probiyotik mikroorganizma sayısında bir düşüş saptanmıştır (Tablo 4.5).

Mikrokapsüle *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 suşu ile çarkıfelek meyvesi suyu üretimini izleyen bir araştırmada, çalışmamıza benzer şekilde 30 günlük depolama süresi boyunca daha düşük sıcaklıkta depolama durumunda probiyotik mikroorganizmanın daha iyi korunabildiği görülmektedir (101).

Mikrokapsüle formdaki *L. paracasei* L26’nin düşük pH seviyesine sahip şeftali ve portakal suyunda depolama sonrası (5°C ve 50 gün) canlılığını inceleyen bir çalışmada, depolama sonunda aljinat ve kitosan ile kapsüllenen popülasyonun portakal suyunda yaklaşık 1 log kob/mL azalarak 5 log kob/mL değerlerinde kaldığı görülmüştür. Bu örnekler şeftali suyunda depolandığında ise yaklaşık 3 log kob/mL probiyotik mikroorganizma kaldığı tespit edilmiştir. Bu durum çalışma boyunca şeftali suyunun daha düşük pH seviyesinde kalmasına bağlanmıştır (102).

Serbest form ve mikrokapsüle formda *L. acidophilus* LA-5 suşunun probiyotik jöle tatlısı eldesinde kullanıldığı bir çalışmada probiyotik mikroorganizma düzeyi, iki farklı sıcaklıkta (7 ve 25°C) 6 haftalık depolama boyunca 1., 7., 10., 15., 30., 35. ve 42. günlerinde toplam 7 çalışmada tespit edilmiştir. Depolama sıcaklığı 25°C koşulunda iken probiyotik mikroorganizma düzeyi her iki grupta da belirgin şekilde azalmıştır

($p<0,05$). Mikrokapsüle probiyotik mikroorganizmanın kullanıldığı örneklerde 6 log kob/mL canlılık kriteri her iki sıcaklıkta da yalnızca 30 gün sağlanabilmiş ve 25°C’de 30 gün depolama sonunda probiyotik mikroorganizma başlangıç düzeyine göre %72 korunabilmiştir (103). Bizim çalışmamızda ise 25°C’de 120 günlük tüm depolama periyotlarında 6 log kob/mL üzerinde probiyotik mikroorganizma tespit edilmiş olup 25°C’de 30. gün ölçüm sonucunda probiyotik mikroorganizma sayısı başlangıç düzeyine göre %98 oranında korunabilmiştir (Tablo 4.1).

Bhagwat ve ark., peynir altı suyu proteini ve maltodekstrin ile kapsüllenmiş probiyotik Enterokok suşlarının 4°C ve 25°C’de 60 gün depolanması sürecinde canlılık düzeyini araştırmışlardır. Depolama koşulu 4°C iken 30. günde canlılık düzeyindeki net kayıp %0,05 ile %0,07 arasında seyrederek 60 gün sonunda %0,1–0,15 arasında değişmiştir. Diğer yandan 25°C’de depolama koşulunda, 30. günde probiyotik mikroorganizma düzeyindeki net kayıp %0,13-0,2 arasında iken 60. günde %0,3–0,4 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada probiyotik mikroorganizmaların inaktivasyonunu önlemek için buzdolabı koşullarında saklanması gerektiğine vurgu yapılmaktadır (104).

Açerola nektarına serbest ve mikrokapsüle formda *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 suşunun eklenip 35 gün depolandığı başka bir çalışmada; depolama boyunca nektardaki mikrokapsüle suşun serbest forma göre daha yüksek probiyotik mikroorganizma sunduğu fakat bu ölçüm değerinin 15. gün ve sonrasında yapılan probiyotik mikroorganizma sayısı ölçümleri sonucunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Nektar örneklerinde depolama süresi sonunda mikrokapsüle formdaki tür 0,69 log kob/g azalarak 7,78 log kob/g düzeyinde canlı kalabilmiştir (17).

Püskürterek dondurma yöntemi ile mikrokapsüle edilen *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* suşlarının tuzlu tahıl barı üretiminde kullanıldığı bir çalışmada, tahıl barları buzdolabı sıcaklığında 120 gün depolanmıştır. Depolamanın 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 ve 120. günlerinde probiyotik bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. Tahıl barı içindeki mikrokapsüle edilen *L. acidophilus* buzdolabı sıcaklığında (4°C) yalnızca 105 gün probiyotik mikroorganizma kriterini sağlayabilmiş (8,1 log kob/g), 120 gün sonunda 6 log kob/g probiyotik mikroorganizma kriterini aşamamıştır (5,2 log kob/g). Tahıl barı içindeki mikrokapsüle edilen *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ise yalnızca 105 gün probiyotik mikroorganizma kriterini

sağlayabilmiş (7,8 log kob/g), 120 gün sonunda 6 log kob/g probiyotik mikroorganizma kriterini aşamamıştır (3,1 log kob/g) (105). Bu çalışmanın aksine bizim çalışmamızda buzdolabı sıcaklığında 120 gün depolama sonunda 6 log kob/g probiyotik mikroorganizma kriterinin oldukça üstünde bir probiyotik mikroorganizma sayısı düzeyi tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Yapılan bir çalışmada ekstrüzyon ve dondurarak kurutma yöntemi ile peynir altı suyu izolatu kullanılarak *L. rhamnosus* R011 mikrokapsülleri üretilmiştir. Bu kapsüller bisküvi üretiminde kullanılmıştır. Hamur aşamasında probiyotik mikroorganizma sayısı 7 log kob/g düzeyinde ölçülmüştür. Pişirme işlemi 280°C’de uygulanmış ve bisküviler 23°C’de 3 hafta depolanmıştır. Depolama sonrası probiyotik mikroorganizma seviyesinin 2 log kob/g düzeyine düştüğü belirtilmiştir (51).

Nişasta ve selülozla mikrokapsüllenmiş *L. plantarum*, steril yulaf sütüne %3 inoküle edilmiştir ve oda sıcaklığında 20-24 saat fermentasyona bırakılmıştır. Baharat ve çilek aromalı probiyotik içecek için probiyotik mikroorganizma düzeyinin sırasıyla $2,5 \times 10^8$ ve $2,3 \times 10^8$ kob/mL seviyesine ulaşabildiği saptanmıştır (79).

Probiyotik bisküvi üretiminin amaçlandığı bir çalışmada aynı oranda karıştırılarak elde edilen *L. acidophilus* NCDC11, *L. rhamnosus* NCDC17 ve *Bifidobacterium bifidum* NCDC236 karışımı emülsiyon yöntemi ile mikrokapsüle edilmiştir. Kapsüller kurutularak krema bileşenlerine eklenerek oda sıcaklığına soğutulmuş ve bisküvilerin arasına katman halinde sürülerek depolanmıştır (25° C’de 8 hafta). Bisküvilere başlangıçta 10 log kob/g düzeyinde entegre edilen hücre konsantrasyonunun depolama sonunda 8 log kob/g seviyesine düştüğü tespit edilmiştir (106).

Prebiyotik ile (inülin ve oligofruktoz) zenginleştirilmiş aljinat bazlı kaplamalara dondurarak kurutulmuş *L. rhamnosus* CECT 8361 eklenmiş ve taze yaban mersini üzerine uygulanmıştır. Yaban mersini örnekleri 21 gün buzdolabı koşullarında saklanmıştır. Prebiyotik ile desteklenen örneklerde depolama boyunca 6,2 log kob/g üzerinde probiyotik mikroorganizma tespit edildiği bildirilmiştir. Buna karşın yalnızca aljinat ve probiyotik suş kombinasyonundan oluşan örneklerde depolama sonunda yaklaşık 5 log kob/g probiyotik mikroorganizma sayısı gözlenmiştir. Bu çalışmada prebiyotik lif eklemenin probiyotik mikroorganizma sayısı üzerindeki olumlu etkisi kayda değer şekilde fark edilmektedir (107).

Püskürterek kurutma metodu ve maltodekstrin, akasya gam, ksantan zamlının ayrı ayrı kaplama materyali olarak kullanıldığı *Lactocaseibacillus casei* ATCC 335 hücrelerinin kapsüle edilip baklagil bazlı içecek üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, kapsülleme öncesinde probiyotik hücrelere kırmızı böbrek fasülye, böbrek fasülye, yeşil kupa fasülyeden oluşan prebiyotik ayrı ayrı eklenmiştir. Çalışma sonunda gastrointestinal koşullarda korunma durumuna bakıldığında en iyi probiyotik mikroorganizma koruma veriminin akasya gamın kaplama materyali olarak kullanıldığı böbrek fasülye içecek tozlarına ait olduğu bildirilmiştir ($>7 \log \text{ kob/mL}$) (108).

Fonksiyonel fıstık ezmesi geliştirmeyi amaçlayan çalışmada, guarana kabuğu ekstraktı ile *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC-1 hücreleri kapsüle edilmiştir. Serbest ve kapsüle hücreler fıstık ezmesine eklenmiş ve 25°C 'de 90 gün depolanmıştır. Guarana kabuğu ekstraktı ile kapsüle edilen hücrelerin depolama sonunda $7,8 \log \text{ kob/g}$ düzeyinde probiyotik mikroorganizma tespit edildiği ve kontrol kapsüllerine (jelatin, arap sakızı) kıyasla daha verimli olduğu bildirilmiştir (109).

Lactiplantibacillus pentosus NRRL B-227 ve *L. plantarum* hücresinin emülsiyon metodu ile kapsül lenerek sofralık zeytine entegre edildiği bir diğer çalışmada zeytin örnekleri 4°C 'de 4 hafta boyunca depolanmıştır. Depolama sonunda zeytinlerin yüzeyindeki probiyotik mikroorganizma konsantrasyonları değerlendirildiğinde her iki kapsül lenmiş hücrelerin de serbest hücrelere göre daha yüksek olduğu ve depolama boyunca $6 \log \text{ kob/g}$ üzerinde probiyotik mikroorganizma sayısı olduğu tespit edilmiştir (110).

5.2. DUYUSAL ÖZELLİKLER

Çalışmamızda geliştirilen probiyotik ürün örneği duysal anket formunda tüm kategorilerde “5: orta” ve üzeri puanlama almıştır. Bu sonuç, ürünün tüketici tarafından kabul edilebilir olduğunu göstermektedir. Mikrokapsüle *L. acidophilus* NCDC11, *L. rhamnosus* NCDC17 ve *Bifidobacterium bifidum* NCDC236 miksi kullanılarak probiyotik bisküvi üretimini gerçekleştiren çalışmada ürünün duysal analizi çalışmamıza benzer şekilde 9’lu likert ölçek ile yapılmış ve duysal değerlendirme sonucunda ürünün aroma, tekstür, tat, görünüş, genel kabul edilebilirlik kriterlerinin kabul edilir seviyede olduğu bildirilmiştir (106).

Püskürterek kurutma, püskürterek dondurma yöntemleri ve bunların kombinasyonu ile *Saccharomyces boulardii*, *Bifidobacterium bifidum* ve *L. acidophilus* suşlarının mikrokapsüle şekilde probiyotik kek geliştirmek amacıyla kullanıldığı araştırmada, kek örneklerinin farklı kombinasyonları 90 gün boyunca 4°C’de depolanmıştır. Kek örneklerin duyu analizi 5 skorlu hedonik skalaya göre gerçekleştirilmiş ve depolama sonunda genel beğeni kategorisi puanlaması 3,87 olarak belirlenmiştir (39).

Dondurarak kurutma yöntemi ile mikrokapsüle edilen *L. plantarum* MTCC 5422 hücrelerinin erişte yapımında kullanıldığı çalışmada örneklerin duyu analizi 15 puanlık hedonik skala ile ölçülmüştür. Probiyotik içeren taze ve kurutulmuş eriştelerin genel kalite skoru 7,5 puanın üzerinde seyretmiş ve probiyotik ilavesi ile ürünün tüketici tarafından kabul edilebilir olduğunu göstermektedir (50).

Emülsiyon yöntemi ile kapsüllenen *L. casei* TCC 39392 hücrelerinin kek kreması içine entegre edilerek kek üretiminde kullanıldığı çalışmada örnekler renk ve görüntü, doku, lezzet ve tat, genel kabul edilebilirlik kategorisi açısından 10 puanlık hedonik skala ile değerlendirilmiştir. Kapsüllenmiş hücreleri içeren örneklerin tüm kategorilerde 9 üzerinde puanlandırıldığı bildirilmiştir (78).

Kapsüllenmiş *L. acidophilus* hücrelerinin ekmek örnekleri üzerine spreylendiği araştırmada, örneklerin duyu analizi 5 skorlu hedonik skala ile 8 kişiden oluşan panelistler tarafından test edilmiştir. Duyu analiz kabuk görüntüsü, koku, kabuk rengi, gevreklik ve kırıntı sertliği kategorilerini içermektedir. Çalışmadaki grupların tüm kategorilerden 2,5 puan üzerinde puan aldığı ve örneklerin tüketici tarafından kabul edilebilir nitelikte olduğu belirtilmiştir (97).

Probiyotik keçiyoynuzu pekmezi üretiminde *L. rhamnosus* suşunun kullanıldığı çalışmada örnekler renk, koku, kıvam, tat, genel kabul edilebilirlik kategorileri açısından 9’lu likert ölçek ile 5 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Mikrokapsüle form içeren örnekler serbest form içeren örneklere göre daha az beğenilmiş olmak ile beraber örneklerin hepsi tüm kategoriler için 5 puanın oldukça üstünde değerlendirilmiştir (99).

Diyet lifi ile zenginleştirilmiş yenilebilir kaplamalara dondurarak kurutulmuş *L. rhamnosus* CECT 8361 eklenip yaban mersini üzerine inoküle edildiği çalışmada, yine 5 puanlık hedonik skala ile duyu analizler test edilmiştir. Genel görsel kalite, koku ve

lezzet kategorilerinin depolamanın 14. gününe kadar kabul edilebilir nitelikte olduğu tespit edilmiştir (>2,5 puan) (107).

Bizim çalışmamızda da üretilen ürünün duysal analizi hedonik ölçek ile değerlendirilmiş ve bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde ürünün tüketici tarafından kabul edilebilir nitelikte olduğu saptanmıştır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. SONUÇLAR

Gerçekleştirilen çalışmamızda *L. bulgaricus* ATA-DBL980012, *L. plantarum* ATA-LPC98052, *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Türkiye) hücrelerinden oluşan kapsüle LLB Mix LTYS -1012021 probiyotik bakteri miksinin leblebiye entegre edilerek probiyotik özellikte leblebi üretimi amaçlanmıştır.

Üretilen mikrokapsül örneklerinde probiyotik mikroorganizma sayımı kontrol amaçlı sayılmıştır. Probiyotik mikroorganizma sayısı 6 log kob/mL şartını sağladığı için bu mikrokapsüller probiyotik leblebi üretiminde kullanılabilmiştir. Mikrokapsüle bakteri miksi ilave edilerek üretilen probiyotik leblebi örnekleri 0, 25 ve 40°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta 4 ay boyunca depolanmıştır. Probiyotik leblebi örneklerinde depolama boyunca probiyotik mikroorganizma sayımı 10 çalışma yapılarak çeşitli zaman aralıklarında (0.gün, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 10. hafta ve 3., 4. ay) tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analize ek olarak 72 panelist tarafından doldurulan duyuusal anket formu ile elde edilen ürünün duyuusal analizi de gerçekleştirilmiştir.

Üretilen probiyotik leblebi örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre:

Leblebi örneklerinin kaplanması kullanılan *L. bulgaricus* ATA-DBL980012, *L. plantarum* ATA-LPC98052 ve *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 (Türkiye) hücrelerinden oluşan kapsüle LLB Mix LTYS -1012021 karışımı 0°C’de depolama süresinin ilk gününden 120. gününe kadar yaklaşık %94 oranında korunarak 11,13 log kob/g değerine ulaşmıştır. Oda sıcaklığında %79 oranında korunarak 9,28 log kob/g değerine ulaşır iken 40°C sıcaklığında %78 oranında korunarak 9,25 log kob/g değerine ulaşmıştır.

Probiyotik mikroorganizma analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde leblebinin probiyotik bakteri canlılığı için uygun bir taşıyıcı gıda matrisi olabileceğini söylemek mümkün olmaktadır. Probiyotik ürünlerin beklenen fonksiyonel etkilerini sağlayabilmesi için probiyotik bakteri popülasyonunun en az 6 log kob/g olması

gerektiği bilinmektedir. Üretilen leblebi örneklerinde probiyotik bakteri sayısının ve stabilitesinin tüm sıcaklık derecelerinde ve tüm depolama süreci boyunca korunduğu görölmektedir.

Probiyotik leblebi örneklerinin duysal analiz sonuçları doğrultusunda:

Renk kriteri için panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, üretilen probiyotik leblebi örneklerinin renk özelliği açısından %57 oranı ile beğeni sağladığı tespit edilmiştir.

Tekstür kriteri için panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, üretilen probiyotik leblebi örneklerinin tekstür özelliği açısından %56 oranı ile beğeni sağladığı tespit edilmiştir.

Lezzet kriteri için panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde üretilen probiyotik leblebi örneklerinin lezzet özelliği açısından %70 oranı ile beğeni sağladığı tespit edilmiştir.

Satın alma kriteri için panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, üretilen probiyotik leblebi örneklerinin satın alma özelliği açısından %59 oranı ile beğeni sağladığı tespit edilmiştir.

Genel kabul edilebilirlik kriteri için panelistler tarafından “5: orta” üzeri puanlama olumlu olarak değerlendirildiğinde, üretilen probiyotik leblebi örneklerinin genel kabul edilebilirlik özelliği açısından %88 oranı ile beğeni sağladığı tespit edilmiştir.

Duysal analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde üretilen probiyotik leblebi örneklerinin tüm kriterler açısından yüksek tüketici beğenisi sunduğu göze çarpmaktadır. Bu sonuçlar neticesinde üretilen bu ürün, tüketici tarafından tercih edilebilir bir probiyotik ürün olarak nitelendirilebilmektedir.

Gerçekleştirilen mikrobiyolojik ve duysal analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde bulguların; *L. bulgaricus* ATA-DBL980012, *L. plantarum* ATA-LPC98052 ve *Bacillus subtilis* LTCS-BSSP031101 probiyotik hücrelerini içeren probiyotik bakteri miksinin emülsiyon yöntemiyle mikrokapsüle edilmesi ile probiyotik leblebi üretiminin geliştirilmesi konusunda umut vadettiği göze çarpmaktadır.

Laktoz intoleransı, vejetaryen, vegan, yüksek kolesterol gibi hassas durumu olan bireylerin sayısındaki artış süt kaynaklı olmayan probiyotik gıda üretimi konusunu teşvik etmektedir. Bu noktada bitki bazlı gıdalara probiyotik bakterilerin entegre edilmesi önem arz etmektedir. Bitki bazlı diğer gıdalara kıyasla yüksek protein ve lif içeriğine sahip leblebi ile probiyotik bakterilerin birleştirilmesi fikri; prebiyotik ve probiyotik etkiyi tek bir birleşimde sunan, birbirini kendi içinde destekleyen, tüketiciye besin değeri açısından verimli ve oldukça rahat tüketim imkanı sunan bir gıda maddesini öne çıkarmaktadır. Bu çalışma ile leblebinin probiyotik bakteriler için uygun bir gıda matriksi olabileceği ve mikrokapsülasyon teknolojisinin probiyotik leblebi örneklerinde depolama boyunca bakteri konsantrasyonunu korumada önemli bir teknoloji olduğu söylenebilmektedir.

Bu teknoloji; gıda işleme, depolama ve tüketim boyunca gastrointestinal sistem geçiş sırasında gıdaya entegre edilen probiyotik bakteri hücrelerinin karşılaşılabileceği olumsuz koşullara karşı oldukça koruyucu bir çözüm olarak nitelendirilebilmektedir. Çalışmamıza ek olarak mikrokapsülasyon teknolojisi ile kaplanan probiyotik bakteri hücrelerini kullanarak fonksiyonel ürün geliştirmeye odaklanan diğer birçok araştırmada da genel olarak yüksek sıcaklık ve uzun depolama süresine karşı maksimum canlılık verimi sağlanabilmektedir.

6.2. ÖNERİLER

Geleneksel bir ürünümüz olan leblebi, mikrokapsüle probiyotik ilavesi sonrasında prebiyotik ve probiyotik içeriğe sahip fonksiyonel ürüne dönüşmüş ve bu durumun leblebiye önemli ölçüde katma değer kazandıracağı düşünülmektedir.

Leblebi, içeriğindeki yüksek diyet lifi sayesinde prebiyotik bir gıda maddesi olarak bilinmektedir. Bu gıda maddesine probiyotik bakterilerin entegre edilmesi ile probiyotik kültürlerin gelişimini destekleyen olumlu bir kombinasyon elde edildiği ve bu durumun tüketim konusunda oldukça bilinçli tüketicilerin bu gıda maddesini tercih etmesinde çekici bir etken olacağı tahmin edilmektedir.

Beslenme konusunda gittikçe bilinçlenen tüketici toplumun fonksiyonel probiyotik gıda ürünlerine karşı artan talebi doğrultusunda probiyotik gıda gelişimini destekleyen çalışmalar desteklenebilir.

Tüketici toplumun içerisinde laktoz intoleransı, vejetaryen, vegan, yüksek kolesterol gibi hassas durumu olan bireylerin sayısındaki artış, bitkisel bazlı probiyotik gıda üretimini hedefleyen çalışmaların artmasını daha da teşvik edebilir.

Bu çalışmada üç farklı probiyotik bakteriden oluşan bakteri miksi kullanılmıştır. İlerleyen çalışmalarda bizim kullandığımız probiyotik bakteri suşlardan farklı olarak gıda endüstrisinde yaygın kullanılan diğer probiyotik suşları mikrokapsüle şekilde leblebi örneklerine entegre edilerek leblebi örnekleri ile probiyotik bakteri suşlarının uyumu değerlendirilebilir ve depolama boyunca leblebideki mikroorganizma sayısı takip edilebilir.

Bu alanda yapılan birçok araştırmada probiyotik bakteri suşları için oldukça çeşitli kaplama materyali ve kombinasyonları kullanılmaktadır. Suş bazında optimum bakteri konsantrasyonu sağlayan kaplama materyalini belirlemek için daha fazla literatür çalışmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle en verimli koruma durumunu sağlayacak kaplama materyali kombinasyonlarının araştırılmasına odaklanılabilir. Bu nedenle; leblebilere entegre edilen mikrokapsüle probiyotik bakteriler, farklı kaplama ajanları ile de kaplanarak depolama süresi boyunca bakteri konsantrasyonu araştırılarak farklı kaplama ajanlarının raf ömrü boyunca bakteri sayısını koruma düzeyi test edilebilir.

Bu çalışmada elde edilen fonksiyonel ürün tek bir zaman diliminde panelistlerle buluşturulmuştur. Ürünün duyusal kriterleri, çalışmamıza göre daha fazla tekrarlarla ve/veya depolama süresi boyunca panelistlerle buluşturularak incelenebilir. Bu şekilde depolama süresi arttıkça ürünün duyusal özelliklerinin ne ölçüde değiştiği tespit edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Yılmaz Ersan, L. & Topçuoğlu, E. (2019). Badem Sütü ile Zenginleştirilmiş Probiyotik Yoğurtların Mikrobiyolojik ve Bazı Fiziko-Kimyasal Özellikleri . Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi , 33 (2) , 321-339.
2. Crowe, K. M., & Francis, C. (2013). Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 113(8), 1096-1103.
3. Zemzemoğlu, T. E. A., Uludağ, E., & Sevda, U. Z. U. N. (2019). ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİNİN PROBİYOTİK BİLGİ DÜZEYİ VE TÜKETİM DURUMLARININ BELİRLENMESİ. *Gıda*, 44(1), 118-130.
4. Brown, A. C., & Valiere, A. (2004). Probiotics and medical nutrition therapy. *Nutrition in clinical care: an official publication of Tufts University*, 7(2), 56.
5. Fijan, S., Frauwallner, A., Varga, L., Langerholc, T., Rogelj, I., Lorber, M., ... & Povalej Bržan, P. (2019). Health professionals' knowledge of probiotics: an international survey. *International journal of environmental research and public health*, 16(17), 3128.
6. TGK, (2017). Türk Gıda Kodeksi, Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği. Yayımlandığı Resmi Gazete: 26.01.2017 Sayı: 29960 (Mükerrer), Ankara.
7. Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., Rastegar, H., & Mortazaei, G. R. (2010). Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh (Iranian fermented milk drink). *Italian Journal of Food Science*, 22(1).
8. Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., & Lacroix, M. (2013). Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(9), 909-916.
9. ÖZKAYA, Ş. Ö. (2021). Yaşam kalitesi ve fonksiyonel besinler. *Fenerbahçe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(1), 62-68.
10. Küster-Boluda, I., & Vidal-Capilla, I. (2017). Consumer attitudes in the election of functional foods. *Spanish Journal of Marketing-ESIC*, 21, 65-79.
11. Iwatani, S., & Yamamoto, N. (2019). Functional food products in Japan: A review. *Food Science and Human Wellness*, 8(2), 96-101.
12. Güneş, R., PALABIYIK, İ., & Kurultay, Ş. (2018). Şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi. *Gıda*, 43(6), 984-1001.
13. Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, 225-241.
14. Hui, Y. H., & Evranuz, E. Ö. (Eds.). (2012). *Handbook of animal-based fermented food and beverage technology* (Vol. 1). CRC press.
15. Global Probiotics Market (2020 to 2025) - by Product Type, Strain, Form, Sales Channel, and Geography. Erişim 17.12.2021, GlobalNewswire by notified: <https://www.globenewswire.com/news-release/2020/10/08/2105400/0/en/Global-Probiotics-Market-2020-to-2025-by-Product-Type-Strain-Form-Sales-Channel-and-Geography.html>
16. Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S. K., & Gupta, R. K. (2016). Non-dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(11), 1856-1867.
17. Antunes, A. E. C., Liserre, A. M., Coelho, A. L. A., Menezes, C. R., Moreno, I., Yotsuyanagi, K., & Azambuja, N. C. (2013). Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 125-131.
18. Rajagopal N. 2012. The North American Probiotics Market. <http://www.naturalproductsinsider.com/articles/2012/10/the-north-american-probiotics-market.aspx> [Erişim tarihi 28.12.2021]
19. Göral, B. S., & Gündüz, G. T. (2018). Use of Probiotic Microorganisms for Plant Based Food Products. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(12), 1741-1750.
20. Yeşilova Y, Sula B, Yavuz E, Uçmak D. (2010). Probiyotikler. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 49-56.
21. Klaenhammer, T. R. (2000). Probiotic bacteria: today and tomorrow. *The Journal of nutrition*, 130(2), 415S-416S.
22. Çakır, İ. (2003). Laktobacillus ve Bifidobakterilerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi).
23. Gökırmaklı, Ç., Üçgül, B., & Güzel-Seydim, Z. B. (2021). Fonksiyonel gıda kavramına yeni bir bakış: postbiyotikler. *GIDA/The Journal of FOOD*, 46(4).

24. Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of controlled release*, 162(1), 56-67.
25. Alm, L. (2009). Probiotics and human health. *Akademik Gida*, 7(5), 6-25.
26. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat science*, 74(1), 219-229.
27. Bağdatlı, A. B. & Kundakçı, A. (2013). Fermente et ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanımı - using probiotic microorganisms in fermented meat products . *Celal Bayar University Journal of Science* , 9 (1) , 31-38 .
28. De Prisco, A., & Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 27-39.
29. Dubey, R. (2009). Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*, 59(1), 82.
30. Champagne, C. P., Raymond, Y., Guertin, N., & Bélanger, G. (2015). Effects of storage conditions, microencapsulation and inclusion in chocolate particles on the stability of probiotic bacteria in ice cream. *International Dairy Journal*, 47, 109-117.
31. Okuro, P. K., Thomazini, M., Balieiro, J. C., Liberal, R. D., & Fávoro-Trindade, C. S. (2013). Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Research International*, 53(1), 96-103.
32. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voille, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food research international*, 40(9), 1107-1121.
33. Kruckeberg, S., Kunz, B., & Weissbrodt, J. (2003). Chances and limits of microencapsulation in progressive food industry. *Chemie Ingenieur Technik*, 75(11), 1733-1740.
34. Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 15-25.
35. 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.
36. Pérez-Chabela, M. L., Lara-Labastida, R., Rodríguez-Huezo, E., & Totós, A. (2013). Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1505-1515.
37. Anekella, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 17-24.
38. Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jiménez, M. T., San Martín-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate polymers*, 102, 423-430.
39. Arslan-Tontul, S., & Erbas, M. (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *Lwt-food science and technology*, 81, 160-169.
40. Bustamante, M., Villarroel, M., Rubilar, M., & Shene, C. (2015). *Lactobacillus acidophilus* La-05 encapsulated by spray drying: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 1162-1168.
41. Dimitrellou, D., Kandyli, P., Petrović, T., Dimitrijević-Branković, S., Lević, S., Nedović, V., & Kourkoutas, Y. (2016). Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 169-174.
42. Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D., Pinto, S. S., Negrão-Murakami, A. N., & Murakami, F. S. (2012). Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Research International*, 45(1), 306-312.
43. De Castro-Cislaghi, F. P., Carina Dos Reis, E. S., Fritzen-Freire, C. B., Lorenz, J. G., & Sant'Anna, E. S. (2012). Bifidobacterium Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 186-193.
44. Onwulata, C. (Ed.). (2005). *Encapsulated and powdered foods*. CRC Press.
45. Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015). Lyophilization/freezing drying—a review. *World journal of pharmaceutical research*, 4(8), 516-543.
46. Barbosa, J., Borges, S., Amorim, M., Pereira, M. J., Oliveira, A., Pintado, M. E., & Teixeira, P. (2015). Comparison of spray drying, freeze drying and convective hot air drying for the production of a probiotic orange powder. *Journal of Functional Foods*, 17, 340-351.

47. Koç, M., Sakin, M., & Ertekin, F. K. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 77-86.
48. Ying, D. Y., Phoon, M. C., Sanguansri, L., Weerakkody, R., Burgar, I., & Augustin, M. A. (2010). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. *Journal of Food Science*, 75(9), E588-E595
49. Li, H., Turner, M. S., & Dhital, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *Lwt*, 74, 542-549.
50. Rajam, R., Kumar, S. B., Prabhasankar, P., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality. *Journal of food science and technology*, 52(7), 4029-4041.
51. Reid, A. A., Champagne, C. P., Gardner, N., Fustier, P., & Vuilleumard, J. C. (2007). Survival in food systems of *Lactobacillus rhamnosus* R011 microentrapped in whey protein gel particles. *Journal of Food Science*, 72(1), M031-M037.
52. Wang, J., Korber, D. R., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2014). Entrapment, survival and release of *Bifidobacterium adolescentis* within chickpea protein-based microcapsules. *Food research international*, 55, 20-27.
53. Amine, K. M., Champagne, C. P., Raymond, Y., St-Gelais, D., Britten, M., Fustier, P., ... & Lacroix, M. (2014). Survival of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Cheddar cheese during production and storage. *Food Control*, 37, 193-199.
54. Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Nunes, G. L., Cichoski, A. J., Jacob-Lopes, E., Grosso, C. R. F., & de Menezes, C. R. (2016). Development and characterization of alginate microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 302-308.
55. Würth, R., Hörmannspurger, G., Wilke, J., Foerst, P., Haller, D., & Kulozik, U. (2015). Protective effect of milk protein based microencapsulation on bacterial survival in simulated gastric juice versus the murine gastrointestinal system. *Journal of functional foods*, 15, 116-125.
56. Valero-Cases, E., & Frutos, M. J. (2015). Effect of different types of encapsulation on the survival of *Lactobacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. *LWT-Food science and technology*, 64(2), 824-828.
57. Shah, A., Gani, A., Ahmad, M., Ashwar, B. A., & Masoodi, F. A. (2016). β -Glucan as an encapsulating agent: Effect on probiotic survival in simulated gastrointestinal tract. *International journal of biological macromolecules*, 82, 217-222.
58. Palamutoğlu, R., & Sariçoban, C. (2013). Probiyotik Mikrororganizmaların Mikroenkapsülasyonu. *Akademik Gıda*, 11(1), 88-96.
59. Doherty, S. B., Auty, M. A., Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Brodkorb, A. J. I. D. J. (2012). Survival of entrapped *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit. *International Dairy Journal*, 22(1), 31-43.
60. de Araújo Etchepare, M., Raddatz, G. C., Cichoski, A. J., Flores, É. M. M., Barin, J. S., Zepka, L. Q., ... & de Menezes, C. R. (2016). Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *Journal of Functional Foods*, 21, 321-329.
61. Coelho-Rocha, N. D., De Castro, C. P., De Jesus, L. C., Leclercq, S. Y., de Cicco Sandes, S. H., Nunes, A. C., ... & Mancha-Agresti, P. (2018). Microencapsulation of lactic acid bacteria improves the gastrointestinal delivery and in situ expression of recombinant fluorescent protein. *Frontiers in microbiology*, 9, 2398.
62. Özer, B., Kirmaci, H. A., Şenel, E., Atamer, M., & Hayaloğlu, A. (2009). Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*, 19(1), 22-29.
63. Zhang, F., Li, X. Y., Park, H. J., & Zhao, M. (2013). Effect of microencapsulation methods on the survival of freeze-dried *Bifidobacterium bifidum*. *Journal of microencapsulation*, 30(6), 511-518.
64. Kumar, S., Rattu, G., Mitharwal, S., Chandra, A., Kumar, S., Kaushik, A., ... & Nema, P. K. (2022). Trends in non-dairy-based probiotic food products: Advances and challenges. *Journal of Food Processing and Preservation*, e16578.
65. Aspri, M., Papademas, P., & Tsaltas, D. (2020). Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, 6(1), 30.
66. Muthukumarasamy, P., & Holley, R. A. (2006). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(2), 164-169.

67. Coghetto, C. C., Flores, S. H., Brinques, G. B., & Ayub, M. A. Z. (2016). 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.
68. Rodrigues, D., Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Silva, J. P., Costa, P., ... & Freitas, A. C. (2012). Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in low pH fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2748-2757.
69. Ezekiel, O. O., Ojuola, O. F., & Adedeji, O. E. (2020). Stability of encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in cocoa (*Theobroma cacao* L.) juice. *Acta Periodica Technologica*, (51), 61-75.
70. García-Ceja, A., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Viability during refrigerated storage in selected food products and during simulated gastrointestinal conditions of individual and combined lactobacilli encapsulated in alginate or alginate-chitosan. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 482-489.
71. Bernat, N., Cháfer, M., González-Martínez, C., Rodríguez-García, J., & Chiralt, A. (2015). Optimisation of oat milk formulation to obtain fermented derivatives by using probiotic *Lactobacillus reuteri* microorganisms. *Food Science and Technology International*, 21(2), 145-157.
72. Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7, 101-111.
73. Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Vanzela, E. S. L., Stringheta, P. C., de Oliveira Pinto, C. L., & Martins, J. M. (2013). Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*, 51(2), 764-770.
74. Soyuçok, A., & Başyigit Kılıç, G. (2017). Süt Kaynaklı Olmayan Probiyotik Gıdalar. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(12), 1615.
75. Zhang, L., Taal, M. A., Boom, R. M., Chen, X. D., & Schutyser, M. A. (2018). Effect of baking conditions and storage on the viability of *Lactobacillus plantarum* supplemented to bread. *LWT*, 87, 318-325.
76. Mandal, S., Hati, S., Puniya, A. K., Singh, R., & Singh, K. (2013). Development of synbiotic milk chocolate using encapsulated *Lactobacillus casei* NCDC 298. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 1031-1037.
77. Soukoulis, C., Yonekura, L., Gan, H. H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C., & Fisk, I. (2014). Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids*, 39, 231-242.
78. Mohammad, A. K. Z., Babak, G. T., Anousheh, S., Nima, M., Hossein, B., & Mohammad, M. M. (2012). Microencapsulation of *Lactobacillus casei* with calcium alginate-resistant starch and evaluation of survival and sensory properties in cream-filled cake. *African Journal of Microbiology Research*, 6(26), 5511-5517.
79. Ravindran, S., & RadhaiSri, S. (2020). Probiotic oats milk drink with microencapsulated *Lactobacillus plantarum*—an alternative to dairy products. *Nutrition & Food Science*.
80. Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., ... & Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants—A review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2-16.
81. Özbey, F. (2022). The non-dairy probiotic potential of the prebiotic Turkish snack “leblebi”. *Food Science and Technology*, 42.
82. TürKomp. (2014). Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı, versiyon 1.0 TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü, Gebze / Kocaeli. from <http://www.turkomp.gov.tr/>
83. Özbey, F. (2017). Effect of traditional processing steps on chemical and nutritional composition of leblebi. *Acta Alimentaria*, 46(3), 290-296.
84. Armutak, Y., & Bayındırlı, A. (1995). Gıdalarda raf ömrü belirleme yöntemleri. *Gıda*, 20(4).
85. Zorba, M., Demirağ, K., & Ova, G. (2005). Gıdaların Bozunma Kinetiği ve Raf Ömrü Tahminleme Modelleri. *Akademik Gıda*, 3(4), 17-22.
86. Turkish Standard Institute. Microbiology of food and animal feeding stuffs-General requirements and guidance for microbiological examinations. TS ISO 7218: 2007, Ankara, Turkey, 2014.
87. ISO 4833-1:2013(E) - Microbiology of the food chain: Horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. International Organization for Standardization, 2013.
88. Bhattacharya, B., & Habtzghi, D. (2002). Median of the p value under the alternative hypothesis. *The American Statistician*, 56(3), 202-206.
89. Özdamar, K. (1999). *Paket programlar ile istatistiksel veri analizi-1: SPSS-MINITAB*. Kaan Kitabevi.

90. Paredes-Toledo, J. (2021). Roasted chickpeas as a probiotic carrier to improve *L. plantarum* 299v survival during storage. *LWT*, 146, 111471.
91. Mokhtari, S., Jafari, S. M., & Khomeiri, M. (2019). Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Science and Technology International*, 25(2), 120-129.
92. Chaikham, P. (2015). Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. *Food Bioscience*, 12, 61-66.
93. Calabuig-Jiménez, L., Betoret, E., Betoret Valls, N., Patrignani, F., Barrera Puigdollers, C., Seguí Gil, L., ... & Dalla Rosa, M. (2019). High pressures homogenization (HPH) to microencapsulate *L. salivarius* spp. *salivarius* in mandarin juice. Probiotic survival and in vitro digestion. *Journal of Food Engineering*, 240, 43-48.
94. Praepanitchai, O. A., Noomhorm, A., & Anal, A. K. (2019). Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed research international*, 2019.
95. Miranda, R. F., de Paula, M. M., da Costa, G. M., Barão, C. E., da Silva, A. C. R., Raices, R. S. L., ... & Pimentel, T. C. (2019). Orange juice added with *L. casei*: is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters?. *Lwt*, 106, 186-193.
96. Seyedain-Ardabili, M., Sharifan, A., & Ghiassi Tarzi, B. (2016). The production of synbiotic bread by microencapsulation. *Food technology and biotechnology*, 54(1), 52-59.
97. Altamirano-Fortoul, R., Moreno-Terrazas, R., Quezada-Gallo, A., & Rosell, C. M. (2012). Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 166-174.
98. Chen, M., & Mustapha, A. (2012). Survival of freeze-dried microcapsules of α -galactosidase producing probiotics in a soy bar matrix. *Food Microbiology*, 30(1), 68-73.
99. Ünal Turhan, E. (2021). Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik kültür ilavesiyle fonksiyonel keçiyoynuzu pekmezi üretimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 11(1), 307-317.
100. Ying, D., Schwander, S., Weerakkody, R., Sanguansri, L., Gantenbein-Demarchi, C., & Augustin, M. A. (2013). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 98-105.
101. Dias, C. O., de Almeida, J. D. S. O., Pinto, S. S., de Oliveira Santana, F. C., Verruck, S., Müller, C. M. O., ... & Amboni, R. D. D. M. C. (2018). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. *Food bioscience*, 24, 26-36.
102. Rodrigues, D., Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Silva, J. P., Costa, P., ... & Freitas, A. C. (2012). Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in low pH fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2748-2757.
103. Talebzadeh, S., & Sharifan, A. (2017). Developing probiotic jelly desserts with *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e13026.
104. Bhagwat, A., Bhushette, P., & Annapure, U. S. (2020). Spray drying studies of probiotic *Enterococcus* strains encapsulated with whey protein and maltodextrin. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 1-8.
105. Bampi, G. B., Backes, G. T., Cansian, R. L., de Matos, F. E., Ansolin, I. M. A., Poletto, B. C., ... & Favaro-Trindade, C. S. (2016). Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food and Bioprocess Technology*, 9(8), 1422-1428.
106. Muzzafar, A., & Sharma, V. (2018). Microencapsulation of probiotics for incorporation in cream biscuits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2193-2201.
107. Bambace, M. F., Alvarez, M. V., & del Rosario Moreira, M. (2019). Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic lactobacilli incorporated into alginate edible coatings. *Food Research International*, 122, 653-660.
108. Chaturvedi, S., & Chakraborty, S. (2022). Comparative analysis of spray-drying microencapsulation of *Lactocaseibacillus casei* in synbiotic legume-based beverages. *Food Bioscience*, 50, 102139.
109. Silva, M. P., Farsoni, E. G., Gobato, C. F., Thomazini, M., & Favaro-Trindade, C. S. (2022). Simultaneous encapsulation of probiotic and guaraná peel extract for development of functional peanut butter. *Food Control*, 138, 109050.
110. Elvan, M., Baysal, A. H., & Harsa, S. (2022). Microencapsulation of a potential probiotic *Lactiplantibacillus pentosus* and its impregnation onto table olives. *LWT*, 156, 112975.

EK

Ek.Duyusal Anket Formu

Duyusal Analiz Panel Formu									
Tarih:									
Bu çalışmada probiyotik leblebi örneklerine ait duyu kalite kriterlerine ait özellikleri aşağıda verilen puan sistemine göre (1-9 skalasında) değerlendiriniz. Açıklama: Kalite ile ilgili puanlama karşılıkları; <i>(9: mükemmel, 8: çok iyi, 7: iyi, 6: iyinin altı ortanın üstü, 5: orta, 4: ortanın altı kötüünün üstü, 3: kötü, 2: çok kötü, 1: son derece kötü)</i> puan aralığındaki hedonik skala kullanılmıştır. 1-9 arası puan veriniz.									
Kalite kriterleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Renk									
Tekstür									
Lezzet									
Satın alma isteği									
Genel kabul edilebilirlik									

