



***Origanum munzurense* Kit Tan & Sorger UÇUCU YAĞ
EMÜLSİYONU İÇİNDE KAPSÜLENMİŞ STARTER
KÜLTÜRÜN KAYISI ÇEKİRDEĞİ HİDROKÖMÜRÜ
ÜZERİNDE İMMOBİLİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELİF CUNDUL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
OCAK - 2024**

***Origanum munzurense* Kit Tan & Sorger UÇUCU YAĞ
EMÜLSİYONU İÇİNDE KAPSÜLENMİŞ STARTER
KÜLTÜRÜN KAYISI ÇEKİRDEĞİ HİDROKÖMÜRÜ
ÜZERİNDE İMMOBİLİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELİF CUNDUL
ORCID ID: 0000-0002-3652-8718

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. ERDAL YABALAK
ORCID ID: 0000-0002-0775-2614

İKİNCİ DANIŞMAN
Doç. Dr. ELİF ERDOĞAN ELİUZ
ORCID ID: 0000-0003-4317-3000

MERSİN
OCAK - 2024

ÖZET

***Origanum munzurense* KİT TAN & SORGER UÇUCU YAĞ EMÜLSİYONU İÇİNDE KAPSÜLENMİŞ STARTER KÜLTÜRÜN KAYISI ÇEKİRDEĞİ HİDROKÖMÜRÜ ÜZERİNDE İMMOBİLİZASYONU**

Bu çalışmada, *O. munzurense*'nin uçucu yağ (EO) mikroemülsiyonu ve kayısı çekirdeği kabuğu hidrokömürü (KKH), starter kültürün (SK: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus suşları*) mikroenkapsülasyonu ve immobilizasyonunda kullanılmıştır. SK bakterileri, *O. munzurense*'nin EO emülsiyonlarına dahil edilmiş ve bakteriyel mikroemülsiyonlar bir liyofilizatör kullanılarak hidrokömür tabakaları üzerinde immobilize edilmiştir. Nihai ürünlerin fizikokimyasal analizleri ve yüzey analizleri FTIR, SEM ve EDS kullanılarak incelenmiştir. Enkapsüle ve/veya immobilize edilmiş SK bakterilerinin canlılığı koloni sayım yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, SK'lerin *O. munzurense* EO mikroemülsiyonu ile büyük ölçüde sarıldığı görülmüştür. Kapsülenmiş SK'ler hidrokömürün katmanlı ve gözenekli yapılarına gömülmüştür. EDS analizinde, enkapsüle ve immobilize SK'de (EnImSK) C, N, O, P, Na, S ve K elementleri tespit edilmiştir. Serbest SK'nin canlılığı ($6,5 \times 10^7$), 5 saat içinde yağ emülsiyonları içindeki bakterilerden ($6,6 \times 10^7$) önemli ölçüde farklılık göstermemiştir. Buna karşılık, EnImSK'nin koloni sayısı 5 saat içinde serbest SK'den daha yüksek olmuştur ($p \leq 5$). EnImSK'deki canlı hücre sayısı pH 2.0'de 5. saatte sırasıyla $\sim 10^1$ ve $\sim 10^2$ kat azalmıştır. Sonuç olarak, starter kültür bakterileri hem emülsiyonda hem de hidrokömür tabakalarında hayatta kalabilmektedir. Bu durum uçucu yağ içerisine bağlanmış starter kültürlerin canlılıklarını sürdürdüğünü, hidrokömür ile stabilite kazandığı ve biyoteknolojik uygulamalar için kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Emülsiyon, İmmobilizasyon, Kayısı çekirdeği hidrokömürü, *O. munzurense*, Starter kültür

Danışman: Doç. Dr. Erdal YABALAK, Mersin Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

IMMOBILIZATION OF *Origanum munzurense* STARTER CULTURE ENCAPSULATED IN KIT TAN & SORGER ESSENTIAL OIL EMULSION ON APRICOT KERNEL HYDROCHAR

In this study, microencapsulation and immobilization of starter culture (SC: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains) were studied using *O. munzurense* essential oil (EO) microemulsion and apricot seed shell hydrochar (ASH). In the study, *O. munzurense* EO emulsions were created and SC bacteria were included in these emulsions. Then, bacterial microemulsions were immobilized on the hydrochar layers using a lyophilizer. Physicochemical analyzes and surface analyzes of the final products were examined using FTIR, SEM, EDS. The viability of encapsulated and/or immobilized SC bacteria was checked using the colony counting method. As a result of the study, SCs were appeared to be massively entangled with the *O. munzurense* EO microemulsion. The encapsulated SCs were embedded in the layered and porous structures of the hydrochar. In EDS analysis, C, N, O, P, Na, S, K elements were detected in EnImSC (encapsulated and immobilized SC). The viability of free SC was insignificantly different (6.5×10^7) from than the bacteria within oil emulsions (6.6×10^7) within 5 hours. In contrast, the colony number of EnImSC were higher than free SC within 5 hours ($p \leq 5$). The number of live cell in EnImSC at pH 2.0 were reduced as $\sim 10^1$ and $\sim 10^2$ times, respectively at the 5. hours. As a result, starter culture bacteria can survive both in the emulsion and in the hydrochar layers. This shows that starter cultures bound in essential oil maintain their viability, gain stability with hydrochar, and can be used for biotechnological applications.

Keywords: Apricot seed hydrochar, Emulsion, Immobilization, *O. munzurense*, Starter culture

Advisor: Assoc. Prof. Erdal YABALAK, Department of Chemistry, Mersin University, Mersin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin süresince büyük destek ve emek veren hem deney hem yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyip bilgisini enerjisini bana aktaran hep arkamda duran ve bana güvenen değerli danışman hocam Doç. Dr. Erdal YABALAK'a ve çalışmamda emekleri olan zamanını ve yardımlarını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Elif ERDOĞAN ELİUZ' a içtenlikle teşekkür ediyorum.

Eğitim hayatım boyunca yanımda olan desteklerini ve umutlarını esirgemeyen beni yüreklendirip motive eden tüm fedakarlıkları yapan ve beni bugünlere getirmek için emekler harcayan değerli babam Özel CUNDUL ve sevgili annem Sıdıka CUNDUL'a, her daim bana inanç veren neşe kaynağım kardeşim Ezgi CUNDUL'a tüm sevgilerim ve minnetlerimle teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak arkadaşlığın anlamını bana en güzel şekilde yaşattıran her zaman yanımda olup çabalayan tüm arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince 2022-1-TP2-4698 Proje Numarası ile desteklenmiştir.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1.Hidrokömür Eldesi ve Önemi	3
2.2. <i>Origanum munzurense</i> Bitkisi ve Tıbbi önemi	4
2.3.Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Ekstraksiyonu	7
2.4. Laktik Asit Bakterileri ve Yoğurt Starter Kültürünün Önemi	7
2.5. Kapsülasyon ve İmmobilizasyon Yöntemlerinin Önemi	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	11
3.1. Kullanılan Materyaller	11
3.2. <i>O. Munzurense</i> Uçucu Yağının Ekstraksiyonu ve Mikroemülsiyonu	11
3.3. Kayısı Çekirdeğinden Hidrokö mür Eldesi	12
3.4. Starter kültürün (SK) Hazırlanması	13
3.5. SK'nin <i>O. Munzurense</i> Uçucu Yağ Emülsiyonu ile Kapşüllenmesi	14
3.6. EnSK'nin Kayısı Çekirdeği Hidrokö mürü Porlarına İmmobilizasyonu	14
3.6.1. ImEnSK'nin Karşılaştırmalı Karakterizasyon Analizi	14
3.6.1.1. ImEnSK'nin SEM Analizi	14
3.6.1.2. ImEnSK'nin FTIR Analizi	15
3.6.1.3. İmmobilize/kapsüllenmiş SK'nin EDS analizi	15
3.7. ImEnSK'de Starter Kültürlerin Canlılık Kontrolü	15
3.8. ImEnSK'ün Kuyucuk Difüzyon Yöntemine Göre Antibakteriyel aktivitesi	15
3.9. İstatistiksel Analizler	16
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	17
4.1. Hidrokö mür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin FT-IR Analizi	17
4.2. Hidrokö mür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin SEM Analizi	19
4.3. Hidrokö mür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin EDS Analizi	21
4.4. KKH yüzeyinde immobilize EnSK'nin Hayatta Kalma Oranı	23
4.5. KKH yüzeyinde immobilize EnSK'nin Antibakteriyel Aktivitesi	24
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1. KKH, EnSK, KKH*SK, EnImSK'nin ağırlık (%W) ve Atomic (%A) oranları	22
Tablo 4.2. Kapsüllenmiş SK'lerin (EnSK), kapsüllenmiş-hareketsizleştirilmiş SK'lerin (EnImSK) ve 10 °C 'de depolama sırasında serbest SK'nin canlılığı (cfu/mL)	23
Tablo 4.3. KKH, EnSK ve ImEnSK'ün bazı patojenlere karşı inhibisyon zonları (IZ)	24



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil.2.1. <i>O. munzurensis</i> 'nin çiçek görüntüsü	5
Şekil.2.2. <i>O. munzurensis</i> görüntüsü	6
Şekil.3.1. Clevenger ekstraksiyon yöntemi	12
Şekil.3.2. Kayısı çekirdeğinin hidrokömür sentez basamakları görüntüsü	13
Şekil.3.3. Laktik asit bakterilerinin anaerobiyoz ortamı (1), üreme kontrollerinin yapılması (2)	13
Şekil.4.1. KKH (A) ve EnImSK'nin (B) FT-IR spektrumları	17
Şekil.4.2. Kayısı çekirdeği kabuğu hidrokömürünün SEM görüntüsü	19
Şekil 4.3. KKH (A), EnSK (B), KKH*SK (C) ve EnImSK'nin (D) farklı büyütme oranlarına sahip SEM görüntüleri	20
Şekil 4.4. Enkapsüle edilmiş laktik asit bakterilerinin farklı noktalardaki görüntüleri	21



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simge	Tanım
m	Metre
cm	Santimetre
mm	Milimetre
g	Gram
nm	Nanometre
TSA	Tryptic Soy Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
°C	Derece santigrat
µL	Mikrolitre
SK	Starter kültür
HK	Hidrotermal karbonizasyon
KKH	Kayısı çekirdek kabuğu hidrokömürü
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Infrared
CFU	Colony forming unit

1. GİRİŞ

Hidrokömür, organik doğal atıkların hidrotermal karbonizasyon yöntemi kullanılarak hidrokömür olarak bilinen değerli kömür ürünlerine dönüştürüldüğü nihai üründür (Islam vd., 2021). Hidrokömür mutfak atıkları, gıda atıkları ve bitkiler gibi birçok biyolojik materyalden üretilmektedir (Yabalak ve Erdoğan Eliuz, 2022; Yabalak ve Elneccar 2021; Saleh vd., 2021). Biyoteknolojik olarak hidrokömür, çoğunlukla bozulmuş ve kirlenmiş topraklarda toprak düzenleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gözenekli ve katmanlı yapısının mikroorganizmalar için bir mikro ortam görevi gördüğü düşünülmektedir. Bu nedenle, toprak mikroflorasının gelişimini desteklediği söylenebilir (Thunshirn ve ark., 2021).

Kayısı çekirdekleri birçok farklı alanlarda kullanılmakta olup bunlardan acı çekirdek olanları kozmetik sanayisinde hammadde olarak kullanılmaktadır (Atiş, 2017). Kayısı çekirdeğine kimyasal boyuttan bakıldığında karatoneid, polisakkarit, uçucu bileşik, polifenol bileşikleri ve bunların yanında yağ asidi sterol gibi türevlerde kayısı çekirdeğinde mevcuttur. (Kan & Karaat, 2019). Kayısı çekirdeklerinde birçok ekstraksiyon çeşitleri kullanılmaktadır. Bunlar solvent ekstraksiyonu, sulu ekstraksiyon ultrasonikasyon, enzim destekli, mikrodalga destekli ve bunlar gibi pek çok yöntem belirlenmiştir (Sagar vd., 2018). Bunun yanı sıra, kayısı çekirdeğinden oluşan atık maddelerin kullanılıp dönüştürülmesi, ekonomik açıdan yararlarını beraberinde getirmiş ve ürünün her aşamasında eklenen değer şeklinde ürüne dönüştürülerek atık oluşma sorunları azaltmıştır (Juhaimi vd., 2018). Yapılan bir çalışmada kayısı çekirdeğinin birkaç bakteri türünde etkiye sebep olmuştur. Bu etki antibakteriyel bir etki olup gram-negatif *Eschericia Coli* ve gram-pozitif *Staphylococcus aureus* üzerinde gerçekleşmiştir, buna ek olarak antifungal özelliğine de sahiptirler (Raj vd., 2012). El-Adawy ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise toksik olan kayısı çekirdeğinin gıdaya eklenmesinin toksisite yönünden tam olarak güvenilir olduğunu bildirmişlerdir (El-Adawy vd., 1994).

Enkapsülasyon, çevresel koşullara duyarlı olan çekirdek malzemenin polimerik koruyucu bir kabuk malzeme içinde enkapsüle edilerek stabil katı formlara dönüştürülmesi işlemidir. Böylece aktif maddenin biyoyararlanımının artırılması, korunması ve işlenmesi amaçlanır. Mikroenkapsülasyon teknolojisi ilaç, eczacılık, gıda, kağıt ve kozmetik sektörleri gibi çok çeşitli alanlarda yer almıştır. Gıda endüstrisinde, katı veya yarı katı formdaki mikrokapsüller takviye edici ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Nesterenko vd., 2013). Mikroenkapsülasyon teknikleri arasında nanoemülsiyon, uçucu yağların kontrollü salımını artırır ve biyolojik aktivitelerini stabilize eder (Ghadetaj vd., 2018; Pirozzi, vd., 2020). Bir nanoenkapsülasyon tekniği olarak nanoemülsiyon yöntemi, çekirdek malzemenin karışmayan iki sıvı içinde kinetik olarak sabitlenerek kapsüllemesidir. Başta gıda olmak üzere tıp, kimya ve kozmetik gibi alanlarda kullanım avantajlarına sahiptir (Solans vd., 2005; Karimirad vd., 2018).

Probiyotiklerin enkapsülasyonu için çeşitli taşıyıcı malzemeler ve hazırlama teknikleri araştırılmaktadır. Aljinat, kitosan, pektin, karragenan, peynir altı suyu, jelatin ve lipidler gibi gıda sınıfı

polimerler bakterileri immobilize etmek için kapsamlı olarak çalışılmıştır (Anal ve Singh, 2007). Ekstrüzyon ve emülsiyon teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak bu tekniklerde düşük mekanik stabilite ve cansızlık gibi sorunlar gözlemlenmiştir (Li ve ark., 2016). Enkapsülasyonun probiyotik bakteriler ve enzime dirençli nişastanın sinbiyotik etkisini elde etmek için en iyi yaklaşımlardan biri olduğu bildirilmiştir (Fuentes-Zaragoza ve ark., 2011). Laktik asit bakterilerinin esansiyel yağ emülsiyonları ile kaplandığı çalışmalar literatürde yaygın değildir. Hou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada susam yağı kullanarak bakterileri nanoemülsiyon içinde hapsedmeyi başarmışlardır (Hou ve ark., 2003). Gıdalarda probiyotik olarak bulunabilen laktik asit bakterileri gibi birçok faydalı bakteri insan sağlığının korunmasına destek olmaktadır (Kavitake ve ark., 2018). Probiyotik suşlar, gastrointestinal sistemde hayatta kalma ve bağırsak kanalında kolonize olma yetenekleri nedeniyle tercih edilmektedir. Probiyotiklerin en önemli özelliklerinden biri, konağın bağırsak sistemindeki patojenlere karşı koruma sağlamasıdır. Tüm bunların yanı sıra probiyotikler farmakolojide ilaç gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılabilir (Ranadheera ve ark., 2019). En yaygın ve değerli fermente süt ürünü yoğurttur. Yoğurt probiyotik fermente bir süt ürünüdür ve yüksek oranda sindirilebilir proteinlere sahiptir. Bu nedenle yoğurt bakterileri insan beslenmesi için çok önemlidir. Ayrıca antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bu durum yoğurt bakterilerinin önemini artırmaktadır (Yerlikaya ve ark., 2021). Probiyotik bakterilerin ticari ve test edilmiş ürünlerdeki canlılığını artırmak için asit ve safraya dirençli suşların seçimi, oksijen geçirmez kapların kullanımı, stres adaptasyonu ve mikroenkapsülasyon gibi çeşitli yaklaşımlar araştırılmaktadır (Shah, 2000). Tzen ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, probiyotiklerin susam yağı emülsiyonlarında başarılı bir şekilde kapsüllenmesi, probiyotiklerin yağ matrisinde rastgele dağıldığını ve canlı kaldığını göstermiştir (Tzen ve ark., 1998).

Birçok *Origanum* türünden ekstrakte edilen uçucu yağlar, biyoaktif ve aromatik özellikleri nedeniyle başta antimikrobiyal ve koleretik etkiler olmak üzere birçok terapötik etkilere sahiptir. Bunlardan bazıları tarım, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde, gıda maddelerinin tatlandırılmasında, parfüm yapımında ve sabun endüstrisinde kullanılmaktadır (Leyva-López vd., 2017; Knez Hrnič vd., 2020). Dünyada yaklaşık 50 türü bulunan *Origanum* türleri, genellikle Akdeniz bölgesi ve Balkanlar'da yayılış göstermektedir. *Origanum* türleri, çok sayıda dik gövdeye sahip yarı çalimsı çok yıllık otsu bitkilerdir ve çiçekleri gövde uçlarında kümelenmiştir (Marrelli ve ark., 2018).

Bu çalışmada, *O. munzurense* uçucu yağ emülsiyonlarına yoğurt kültürü dahil edilmiştir. Bu çalışma starter kültürün (SK) mikroemülsiyon içine hapsedilmesi ve hidrokömür ile bağlanmasını kapsamaktadır. *O. munzurense* uçucu yağ emülsiyonları oluşturulmuş ve bakteriler bu emülsiyonlara dahil edilmiştir. Çalışmanın devamında bakteriyel mikroemülsiyonlar hidrokömür kullanılarak kaplanmıştır. Enkapsüle ve/veya immobilize formdaki SK bakterilerinin canlılığı koloni sayım yöntemi kullanılarak kontrol edilmiştir. Nihai ürünlerin fizikokimyasal analizleri ve yüzey analizleri FTIR, SEM ve EDS kullanılarak incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1.Hidrokömür Eldesi ve Önemi

Hidrokömür hidrotermal karbonizasyon yöntemi kullanılarak, organik doğal atıkların hidrokömür olarak bilinen değerli kömür ürünlerine dönüştürüldüğü son üründür. Son zamanlarda, hidrotermal karbonizasyon (HK), değerli birçok ürünü ilgilendiren biyokütle işleminin seçilebilir bir yöntemi olarak kullanılmak istenmiştir (Stemann vd., 2013; Zhu vd., 2014). HK işleminden sonra oluşan katı madde biyokömürden farklı olduğunu iletmek için hidrokömür olarak isimlendirilmiştir. HK'nin yüksek olmayan enerji tüketimi ve piroliz işlemine göre düşük emisyon, ona göre daha yüksek miktarda kömür eldesi buna ek olarak düşük miktarda enerji kullanılması gibi faydaları olduğu bilinmektedir (Fang vd., 2018). Yaygın olarak bilinen biyokömürle kıyasla daha az çalışılmıştır (Islam vd., 2021). Katyon değiştirme kapasitesi ve verimli yüzey alanı gibi avantajları nedeniyle toprak iyileştirme, stabilizatörler ve karbon tutma gibi endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Yabalak, Erdogan ve Eliuz, 2022). Hidrokömür üretimi, yüksek sıcaklık (373 K-647 K) basınç (suyu sıvı halde tutamaya yetecek kadar) koşullarındaki su ortamında (subkritik su ortamı) gerçekleşmektedir. Subkritik su ortamında biyokütle hidrokömüre dönüştürüldüğünde diğer yöntemlerle (klasik torrafasyon, piroliz veya gazlaştırma) elde edilemeyen yüksek bir dönüşüm verimi elde edilebilmekte ve suda çözünür bileşenlerin hidrokömürde kalması sağlanabilmektedir (Chuntanapum ve Matsumura , 2009; Kumar ve Gupta ,2009; Yabalak ve Elneccar, 2021a ; Saleh vd., 2021). Hidrokömür, mutfak atıkları, gıda atıklarından ve bitkiler gibi birçok biyolojik materyalden üretilmektedir (Chuntanapum ve Matsumura, 2009; Kumar ve Gupta ,2009; Belda vd., 2016; Saleh vd., 2021, Yabalak ve Elneccar, 2021a; Yabalak, Erdogan ve Eliuz, 2022). Hidrokömür, daha çok bozulmuş ve kirlenmiş topraklarda toprak düzenleyici olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hidrokömür sentezi Yabalak ve Elneccar'ın (2021) bildirdiği yönteme benzer şekilde, aşağıda belirtildiği gibi gerçekleşmektedir. Yüksek basınç ve sıcaklığa dayanıklı paslanmaz çelik reaktör içine belirli miktarda biyokütle alınarak üzerine saf su ilave edilmektedir. Reaktör kapatılarak iç basıncı azot gazı ile 100 bar'a ve sıcaklığı da 240 °C'ye yükseltilmektedir. 1 saatlik sürenin sonunda reaktör soğutulurak iç basıncı atmosfer şartlarına indirilerek ve oluşan hidrokömür 97 °C'ye ayarlanmış etüvde kurutulmaktadır. Kuru kütle tartılarak başlangıçta kullanılan kütle ile kıyas edilerek hidrokömür dönüşüm verim hesaplanmaktadır. Elde edilecek hidrokömür ileri çalışmalarda kullanılmak üzere koyu renkli, kapaklı şişelerde saklanmaktadır (Yabalak ve Elneccar, 2021a; Yabalak ve Elneccar, 2021b; Saleh vd., 2021; Belda vd., 2016).

2.2. *Origanum munzurense* Bitkisi ve Tıbbi önemi

Origanum türleri İran, Kuzey Anadolu, Kuzey Amerika, Asyanın bir bölümü, Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yayılmıştır. Lamiaceae familyasının diğer üyelerine benzer karakteristik özelliklere sahiptir. Genel olarak, otsu ya da yarı çalimsı çok yıllık bitkilerdir. *Origanum* türlerinin birçok ülkede kültüre alınmıştır (Ietswaart, 1980). Anadolu'da "Mercanköşk" adıyla bilinen *Origanum* türleri, tüm dünyada bazen uçucu yağı elde edilerek veya doğrudan drag şeklinde kullanılarak tıbbi tedavilerde kendisinden yararlanılmıştır (Baytop, 1984).

Lamiaceae familyası, otsu, çalimsı ya da ağaç yapısındaki bitkileri içeren tırmanıcı, aromatik kokulu veya kokusuz kozmopolit bir familyadır. Kökler ender olarak yumru şeklinde ya da kazık şeklindedir. Yapraklar birbirine karşılıklı olacak şekilde ya da çevresel olarak sıralanır, basit ya da bileşik formda var olabilirler (Harley vd., 2004). Lamiaceae familyasına ait olan bitki türlerinin hem biyolojik hem de farmakolojik etkileri yıllardır belirlenmeye çalışılmaktadır. Bitkilerin kimyasal yapısında yer alan temel yağlar bu bitkilere fitoterapik işlevlik kazandırmaktadır (Bozin vd., 2006). *Origanum* türlerinin de dâhil olduğu Lamiaceae'nin taksonları, Anadolu'nun bitkisel çeşitliliği içinde önemli yere sahip olmalarının yanı sıra, kimyasal yapılarında var olan eterik yağlar, farklı yapıdaki katkı maddeleri ve kimyasallar nedeniyle antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antifungal ve antiviral özellikli çeşitli özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu yüzden tıbbi amaçların yanında ticari amaçlıda önemli yere sahiptir (Aruoma vd., 1996; Dorman ve Deans, 2000; Pizzale vd., 2002; Soković vd., 2002; Ersoy, 2009). Belirlenen önemli cinsleri, *Salvia*, *Thymus*, *Prunella*, *Lamium*, *Origanum*, *Teucrium*, *Thymbra*, *Satureja*, *Mentha*, *Ballota*, *Stachys*, *Ajuga*, *Melissa*, *Marrubium* ve *Sideritis*'dir. Bunun yanı sıra uçucu yağ verimi oldukça yüksek olan Lamiaceae familyası endemik bitki bakımından zengindir (Karaman ve Kocabas, 2001). Hem tıbbi hem de aromatik özellikte olan aile; farmakolojik özelliklerinden dolayı etnobotanikçiler tarafından merak edilmiş ve önemli yere sahip olmuştur. Örnek verecek olursak; diyabet hastalığında, *Melissa officinalis* L. (oğul otu), *Mentha aquatica* L. (su nanesi), *Origanum majorana* L. (kekik), *Origanum vulgare* L. *subsp. vulgare* (dağ kekiği), kronik böbrek yetmezliğinde *Salvia miltiorrhiza* (kırmızı adaçayı), astım ve nefes darlığında *Phlomis armeniaca* Willd. (boz şavlak) gibi birçok bitki kullanılmıştır (Kara, 2006; Ernaz, 2009; Arıtuluk ve Ezer, 2012).



Şekil.2.1. *O. munzurense*'nin çiçek görüntüsü (<https://www.turkiyebitkileri.com/tr/fotoğraf galerisi>)

Dünya üzerinde 50 ye yakın türü bulunan Origanum türleri çoğunlukla Akdeniz bölgesinde ve Balkanlarda yayılış gösterirler. Origanum türleri, birden fazla dik gövdesi olan, çok yıllık otsu veya yarı çalimsı bitkiler olup, çiçekleri salkımsı veya gövde uçlarında toplu halde bulunmaktadır (Davis,1982). Orta büyüklükteki çok yıllık bu bitkiler, genellikle sıcak iklimde, besince zengin, çoğunlukla kireçli topraklarda iyi yetişirler (Ünal vd., 2005). Origanum türlerinden elde edilen uçucu yağlar, çeşitli kimyasal ve aromatik özelliklerinden dolayı başta koleretik ve antimikrobiyal etki olmak üzere bazı terapötik etkilere sahiptirler. Birçok kullanım yeri mevcuttur bunlardan bazılarını örnek verecek olursak tarım, ilaç ve kozmetik endüstrisinde, maddelere aromatik özellik kazandırılmasında, parfüm yapımında ve sabun sanayisinde kullanılırlar. Bitki, birçok tedavi yöntemlerinde de kullanılır bunlardan bazıları sindirim ve solunum sistemi hastalıklarının önlenmesi, gaz giderici, terletici, balgam, idrar söktürücü, ses kısıklığı, kadın hastalıklarının tedavisi, öksürük, antispazmatik, antiseptik ve boğmaca tedavisinde kullanılabilecek özelliklere sahiptir (Kılıç ve Bağcı, 2008). Bu bitkilerin çoğu, uçucu yağ içeriği bakımından zengin olduğu için ekonomik yönden oldukça önemlidir. Özetle, aromatik bitkilerin çoğu, alternatif tıpta, parfümeride, gıda endüstrisinde ve kozmetik ürünlerin geliştirilmesi ve de çeşitli hastalıkların tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır (Saleem, 2000). Ayrıca ishal, hazımsızlık bulaşıcı hastalıklar, astım, kas ağrısı, kramp, romatizma, bulantı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılır (Dorman vd., 2004).



Şekil.2.2. *O. munzurense* görüntüsü (<https://www.turkiyebitkileri.com/tr/fotoğraf-galerisi>)

Bir araştırmada *O. munzurense* ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi incelenmesi için çalışmada *Klebsiella pneumonia* (ATCC 10031), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ve *S. aureus* (ATCC 25923) kullanılmıştır (Romulo vd., 2018; Silva vd., 2018). Son zamanlarda, bakteriyel enfeksiyonların iyi boyuta gelmesinde antibiyotiklerin ya da kimyasal antimikrobiyal maddelerin doğru olmayan kullanımı, sağlık açısından sorun oluşturan ilaç direncini yükselttiği sonucuna ulaşılmıştır (Romulo vd.,2018; Silva vd.,2018). Bunların yanında, hayvancılıkta nitelikli olan enfeksiyonların tedavi edilmesinde antibiyotiklerin genel olarak kullanımı, bazı patojen suşlarında direnç göstermektedir ve bu direnç genleri bazı bakterilere aktarılmaktadır bu da insanlarda hastalığa neden olan bakterilerdendir (Berendonk vd.,2015; Pimchan vd., 2018). Sağdıç ve ark., (2003) Hakiki kekik (*Thymus vulgaris* L.), yabani kekik (*Thymus serpyllum* L.), İstanbul kekiği (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) ve Bilyalı kekik (*Origanum onites* L.) hidrosollerin birçok farklı bakteri (*Staphylococcus aureus* ATTC 2392, ve *Y. enterocolitica* ATTC 1501), *E. coli* ATTC 25922 ve *E. coli* O157:H7 ATCC 33150 türüne karşı antibakteriyale olan etkisine bakıp ve her hidrosolin antibakteriyel etkisinin var olduğu kanısına varmıştır (Sağdıç, 2003). Tepe ve ark., Suriye kekiği (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii*) yapraklarını kullanarak birbirinden farklı çözücüler kullanarak ekstraksiyon yapıp oluşan ekstraktların antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini gözlemlemek için çalışmalarda bulunmuşlardır (Tepe vd., 2004). Şahin ve ark., yaptığı çalışmada Vulgare (*Origanum vulgare* ssp.)'nin Soxhlet ekstraksiyonu kullanılarak metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğini araştırmışlardır. Bunun yanında DPPH yolunu kullanarak serbest radikal süpürme aktivitesini ve bunlara ek disk füzyon yöntemini ele alarak antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır (Şahin vd., 2004).

2.3. Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Ekstraksiyonu

Uçucu bileşikleri elde etmede genel olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Kısaca uçucu yağ taşıyan bitkilerin ilaç olarak kullanılan kısmı su damıtılmasıyla ayrıştırılan uçucu yağın hacminin ölçülmesidir. Bunun içinde clevenger cihazından yararlanır. Küçük ölçekli üretimlerde Clevenger aparatı ile damıtma, endüstriyel uygulamalarda ise büyük damıtma kazanlarında (İmbik) gerçekleştirilmektedir. Yöntem; bir cam balon içerisinde su ve bitki materyalinin yaklaşık 4-8 saat süre ile kaynatılarak ve ardından su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin bir soğutucu sisteme ulaştığında yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasıdır. Düzeneği biraz daha açıklayacak olursak asıl olarak Clevenger düzeneği yapısında soğutucu ve reflaks akımı ile ilerleyen cam düzeneği ve bir cam balon kullanılmaktadır. Sıcaklık ile bitkinin kaynama noktasından itibaren buharlaşma başlar. Yapısında bulunan yağ küreleri su buharı ile birlikte hareket eder ve yoğunlaştırıcıda soğuk su ile karşılaşır. İlerleyen aşamada içi soğuk su dolu cam boruya düşen yağ yoğunlaşmaya başlar. Yağ ve su birbirleri ile ayrılmış belirgin bir faz oluşturur (Thapa,1989; Wijesekera,1993). Elde edilen uçucu yağ miktarı hacimsel (v) olarak ölçülür. En verimli ekstraksiyon, toz halindeki materyallerden (örneğin; kök ya da odun unu) elde edilir (Linskens ve Jackson, 1997). Elde edilen yağ miktarı fazladır ve suyun kaynatılması için kullanılan yüksek sıcaklık, birçok termal reaksiyonlara yol açmaktadır.

2.4. Laktik Asit Bakterileri ve Yoğurt Starter Kültürünün Önemi

Starter kültür, fermentasyon olayının yeterliliğini yükseltmek için tercih edilen ve bunlara seçilmiş mikrobiyal preparatlar adı verilmektedir (Vinicius De Melo Pereira vd., 2020). Fermente gıdaların yapımında elverişli starter kültür vaziyetine getirmek için fermentasyonu zor olmadan yapılan ve buna ek olarak laktik asit bakterilerinin (LAB) farklı işlevsel yapıları üretime katkı sağlamaktadır (Kavitake vd., 2018). Bu bakterilerin birçok etkileri bulunmaktadır. Bulunan bileşikler hidrojen peroksit, bakteriyosin, organik asit ve bunlara benzer bileşikler, postbiyotik bileşikler yapımıyla yiyecekte var olan bozucu ve bunun yanı sıra patojen mikroorganizmalara antimikrobiyal etken olarak karşıtlık sergilemektedir (Moradi vd., 2020; Chen vd., 2020). Laktik asit bakterilerinin starter kültür şeklinde yararlanılması çekici hale getiren nedenler arasında besinsel oranların yükselmesi buna ek raf ömrünün artması ve laktik asit bakterilerin yaptığı glikanlar veya polisakkaritler aracılığıyla elde edilen ürün dokusunda iyi yönde tesirinin görülmesi ve bunların yanında laktik asit bakterilerin yaptığı peptit ve aminoasit yardımıyla etki edilen ürüne duyuşsal nitelik katmaktadır. (Canon vd., 2020). Starter kültür şeklinde yararlanılacak bakterinin net bulguların gerçekleştirilmesi ve endüstriyel fonksiyonların iyi olarak bilinir kılınması gerekmektedir. Bu endüstriyel nitelikler; LAB'ların starter kültür olarak kullanılabilmeleri konusunda belirleyici olan endüstriyel özellikler; proteolitik etkinlik, laktik asit ve aroma maddelerinin yapımı ve bakteriyofaj dirençli olma durumudur (Demirgöl ve Sağdıç, 2017; Aydın ve Çakır, 2022). Laktik asit bakterilerinin fonksiyonlarından biri laktozu fermente duruma getirerek

laktik asit oluşumunu sağlamaktadır. Laktik asit bulunduğu yerin pH'ını azaltarak arzu edilmeyen mikroorganizmaların yetişmesini engeller ve bunun yanında pH'ın azalması nedeniyle proteinin koagüle şekline gelmesi özette süt yoğunlaşarak yoğurdun ortaya çıkma mekanizmasının özünü gerçekleştirir. Ama bu esnada ağır ilerleyen asitlik serum ayrılması gibi sorunlara yol açar (Shah, 2017; Uzunsoy, 2018). Suşların fajlara karşı direnci starter kültürlerin özelliğidir. Ortamdaki kültürlerin herhangi birinin dahi ortamda olası faj veya fajlara duyarlı olması, fermantasyon olayının yavaşlamasına ya da durma noktasına varma olarak tanımlanmaktadır; bu durum sonucunda önemli bir ürün kaybı gelişir (Acar Soykut ve Tunail, 2009).

Laktik asit bakterileri (LAB), laktik asit üretebilmek için dış ortamdaki karbonhidratların yapısını kullanan bir bakteri gurubudur. Doğada çeşitli ortamlarda bulunmaktadır (Abriouel vd.,2012). LAB, biyo çeşitlilik yönden zengindir. İnsanlar için oldukça önemli bir biyolojik kaynaktır. Laktik asit bakterileri yüksek verimli hayvancılık, yüksek verimli tarım, endüstriyel biyo-üretim, gıda üretimi ve işleme, sağlık ve tıbbi ve bunun gibi birçok uygulama alanı vardır (Chen, 2019). Laktik asit bakterileri Gram (+),kokbasil, sporsuz kok, veya çubuk şeklinde olan, DNA'sında %53 mol guanin ve sitozinden az olmayan bakterilerdir. Oksidaz negatif olmaktadır, asite karşı tolerans gösteren bakterilerdir. Yapılan çalışmalar, LAB'ların katalaz negatif olduğunu göstermiş olup, katalaz enzimleri olmadıklarında süperoksidad dismutaz enzimi içerdikleri gözlemlenmiştir. Bunun yanısıra, peroksidad enzimleri ve peroksit radikalleri yardımı ile detoksifiye reaksiyonları yaptığı gözlemlenmiştir. Ayrıca LAB, oksijen kullanımına göre ayrılarak mikroaerofilik, anaerobik veya aerotolerantlardır. Fakat genelde tüm LAB ler anaerobik şekilde gelişirler. LAB'ların çevresel uygun sıcaklık aralığı 5-50 °C arasında olması uygundur fakat birçok LAB için uygun olan sıcaklık değeri 30 °C'dir. 4,0-4,5 pH değerlerinde aktifleşirler. En düşük pH değeri ise 3,0-3,6 aralığıdır, fakat 3,0-3,6 pH değerlerinin altındada kuvvetli asit oluşturma özelliği gösteren türleri mevcuttur. pH 4,5 üzerinde olduğunda eylem oluşturmayan *Lactobacillus brevis* gibi türlerinin var olduğu bilinmektedir. LAB'ların ortam sıcaklığına bağlı olarak aktiflikleri değişmekte bunun yanı sıra çoğu zamanda 20-40 °C arasında en büyük şekilde aktiflik göstermektedirler (Basmacıoğlu ve Ergül,2002; Cheng ve Li, 2018).

Sağlığa faydaları nedeniyle, LAB 1930'lardan 1940'lara beri probiyotik olarak kullanılmaktadır. Çalışmalar, LAB için insan tüketiminin güvenli olduğunu gösterdiğinden ve bunlar: Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) veya Nitelikli Güvenlik Öngörüsü (QPS) durumu olarak onaylanmıştır (Daba vd., 2021). LAB'lar amino asit ve vitamin sentezi, antimikrobiyal peptitler (bakteriosinler), selenoproteinler, organik asitler, ekzopolisakkaritler gibi biyoteknolojik önemi olan çeşitli ilgi çekici bileşikler, konjuge linoleik asitler ve kısa zincirli yağ asitleri sentezleme yetenekleri vardır (Daba vd., 2021; LeBlanc, 2011). Bu mikroorganizmalar arasında, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weissella* cinslerine ait LAB üyelerinin EPS üreticileri olduğu bildirilmiştir (Garai-Ibabe vd., 2010; Zhou vd., 2019). Laktik asit bakterilerinin birçok türünün bakteriyosin ürettiği bilindiğinden, *Lactobacillus acidophilus* tarafından üretilen lactocidin ve acidophilin, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen lactolin veya *Lactococcus lactis* tarafından

üretile nisin gibi antibiyotik maddeler sayesinde antibakteriyel etki görülmektedir. Laktik asit bakterileri organik asit, antifungal peptitler, aseton, hidrojen peroksit, diasetil, reuterin ve bakteriyosinler gibi birçok çeşitli antimikrobiyel bileşikler oluşturma özelliğine sahip olmasından dolayı, son yıllarda gıda koruyucusu olarak kullanımları görülmeye başlanmıştır. Laktik asit bakterileri ürettikleri bakteriyosinler yoluyla, bakteriyosinin türüne bağlı olarak *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* gibi gıda orjinli patojen bakterileri engellemektedir. Bunlara ek olarak bakteriyosinlerin bazı gram negatif bakteriler üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Messi vd., 2001). Laktik asit bakterileri, starter kültür olarak da bilinirler ve fermente süt ürünlerinin (peynir, yoğurt, tereyağı, kefir, kıymız vb.) endüstriyel işlenmesi için birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca starter olmayan laktik asit bakterileri hammaddeden ve çevreden kaynaklanabilir (Cruz vd., 2010; Bintsis, 2018).

Yoğurt tüm dünyada *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* tarafından fermente edilen pastörize süttten üretililen besin olarak bilinirler (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001). Laktozun laktik asit bakterileri (LAB) tarafından laktik asite fermentasyonuyla elde edilen popüler bir süt ürünüdür ve her türlü süttten yapılabilir. Yoğurt, sağlıklı dişler, kemikler ve bağışıklık sistemi için gerekli olan mükemmel bir vitamin, mineral ve kalsiyum kaynağıdır. Starter kültürlerde *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un varlığının yanı sıra, yoğurt benzeri ürünler fonksiyonel probiyotik özelliklere sahip diğer LAB suşlarını da içerebilir (Aryana vd., 2017). Yoğurt kültürü, starter kültür veya başlatıcı kültürler stabil olmalı ve depolama süresi boyunca (genellikle 21-28 gün) buzdolabı sıcaklığında hayatta kalabilmelidir. Yoğurt kültürlerinin laktoz sindirimini iyileştirdiği ve intolerans semptomlarını ortadan kaldırdığı için laktoz intoleransı olan kişilerin yoğurdu süttten çok daha iyi tolere edebildiği fark edilmiştir (Saborido vd., 2018). Günlük yeterli miktarda yoğurt alımı, diğer bir ifade ile yeterli miktarda canlı LAB tüketimi bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etkiler yaratabilir (Lisko vd., 2017). Yoğurtların kolon kanseri üzerinde inhibitör etkisi, bağırsak homeostazisini yeniden sağlama yeteneği, ülseratif kolit ve Chron hastalığı gibi çeşitli inflamatuvar bağırsak hastalıklarının gelişimini önleme ve bu hastalıkların olumsuz etkilerini azaltma yeteneği olduğu gösterilmiştir (Popović vd., 2020).

2.5. Kapsülasyon ve İmmobilizasyon Yöntemlerinin Önemi

Hedefteki objenin farklı yapılarıdaki var olan matrisle kaplanması (heterojen matrisle veya homojen matrisle) olayı kapsüllenme olarak tanımlanmaktadır (Ezhilarasi vd., 2012; Gunaratne vd., 2016; Ozdemir ve Kemerli, 2016). Gıdanın zor ve önemli olan üretim, korunma, muhafaza ve oluşturma gibi işlemler sırasında var olan etki eden olumsuz çevresel faktörlere aykırı birçok çeşit biyoaktif madde ve nutrasötikleri koruma altına alarak vücutta taşınma ve salınımları oluşturmada ve buna ek olumsuz şartlarda gıdadaki biyoaktif maddenin olumsuz bileşenlere transformasyonunu engelleyen yapı nanokapsül olarak tanımlanmaktadır. Bunun yanı sıra bu maddelerin biyoyararlılıkları da artmaktadır

(Baysal, 2020; Dion vd., 2008; Sozer ve Kokini, 2009; Chaudhry, 2008). Kapsülasyon çoğunlukla çevrenin değişen şartlarına karşı hassas çekirdek materyalin, genellikle polimer yapıdaki koruyucu bir kabuk materyal içine hapsedilmesi işlemidir. Mikrokapsülasyon ise, farmasötik, nütresötik, gıda, kâğıt endüstrisi ve kozmetik araştırmaları gibi farklı alanlarda kullanılan mikroölçekli tekniklerdir. Günümüzde, tüm alanlarda mikrokapsülasyonlar ön plana çıkmaktadır. Toz veya katı formda gıda katkı maddeleri ve takviye gıda maddeleri olarak kullanılmaktadır. Mikrokapsülasyon veya nanokapsülasyon uygulamalarında amaç; çekirdek materyal olan aktif bileşiklerin sabit katı formlara dönüştürülmesi ve sonuç olarak biyoyararlılıklarının artırılması ve ürünlerin işlenmesi hedeflenmektedir (Nesterenko vd., 2013).

Immobilizasyon, hareketsizleştirme, bir maddenin bir destek materyali ile yerinde tutulması sürecini ifade eder. Probiyotiklerin süt ve süt ürünleri gibi gıdalara uygulanmasından sonra, probiyotiklerin bir destek ile immobilize edilmesi yaygın çalışmalar arasındadır. Çünkü, birçok çalışma işlenmiş gıdalarda probiyotik bakterilerin hayatta kalma oranının zayıf olduğunu göstermiştir (Oliveira vd., 2002; Tamime ve ark., 2005). Son on yılda probiyotik sağlık bazlı ürünlerde bir patlama yaşandı. Probiyotikler belki de binlerce yıldır yoğurt gibi gıdalarda tüketilmektedir (Krunić vd., 2016). Immobilizasyon ve enkapsülasyon teknikleri, nanoteknolojinin gıda sektörüne eklenmesiyle çözünürlük, termal stabilite daha çok geliştirilmiş bunlara ek güncel ve biyoyararlanımı gelişen gıdaların üretilmesi sağlanmıştır. Raf ömrünün arttırılmasının, gıda kirleticilerinin iyi şekilde takip edilmesini, gıda koruyucularının gıdalara iyi şekilde eklenebilmesi için gelişimi sağlayan nanoteknoloji yeni gelişmeler yaratmaktadır (Hamad vd., 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Materyaller

Paslanmaz çelik reaktör (sabit yataklı yüksek basınçlı reaktör, yerli yapım), elek çalkalayıcı (SCoratory tipi), ultrasonik homojenizatör (Baandelin Sonoplus, Tip: UW3200, Prob: KE 76), Millipore Milli-Q Advantage A10 saf su cihazı (Darmstadt, Almanya), FT-IR (Jasco 6700), SEM (ZEISS SUPRA 55), Eliza spektrofotometre (Thermo Scientific, MULTISKAN, Finlandiya), otoklav (Core OT 40L), inkübatör (Core EN 055), hassas terazi (Citizon, CX220, Jadever), sterilizatör (Nuve FN 500), Çalkalayıcı (IKA®C-MAG HS7) ve 0.45 µm'lik şırınga filtre (Agilent, Santa Clara, CA, ABD) kullanılmıştır. Yoğurt starter kültürü (SK) (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşları) Türkiye'deki BüyüYo firmasından satın alınmıştır. Bakteri üremesi için Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) agar (Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. *O. munzurense* bitkisi Tunceli/Türkiye bölgesinden toplanmış ve kurutulmuştur.

3.2. *O. Munzurense* Uçucu Yağının Ekstraksiyonu ve Mikroemülsiyonu

O. munzurense uçucu yağı Clevenger tipi aparat kullanılarak 4 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Uçucu yağ düzenekten 10 mL'lik bir tüpe aktarılmıştır. Tüpün üzerinde kalan yağ bir pipet yardımıyla alındı. Yağın alındığı tüpe sodyum sülfat eklenmiş ve santrifüj edilmiştir (Yabalak ve ark., 2021). Çalışmada, uçucu yağ ağırlıkça %1 oranında distile suya ve Tween 80'e (yağın %30'u kadar) yavaşça eklenmiş ve bir emülsiyon elde etmek için 10000 rpm karıştırma hızında 3 dakika boyunca emülsifiye edilmiştir. Daha sonra, ilk emülsiyon 15 dakika boyunca 20 kHz ve 200 W'da çalışan bir prob sonikatör ile nano-emülsifiye edilmiştir (Hemmatkhah vd., 2020).



Şekil 3.1. Clevenger ekstraksiyon yöntemi

3.3. Kayısı Çekirdeğinden Hidrokömür Eldesi

Hidrokömür sentezi, Yabalak ve Elneccar tarafından bildirilen yönteme benzer şekilde, aşağıda açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir (Yabalak ve Elneccar, 2021). Yüksek basınç ve sıcaklığa dayanıklı paslanmaz çelik reaktöre belirli miktarda biyokütle alınmış ve üzerine saf su eklenmiştir. Reaktör kapatılarak iç basıncı azot gazı ile 100 bara, sıcaklığı ise 240 °C'ye çıkarılmıştır. 1 saatin sonunda reaktör soğutularak iç basınç atmosferik koşullara düşürülmüştür ve oluşan hidrokömür 97 °C'ye ayarlanmış bir fırında kurutulmuştur. Daha sonra otomatik bir elek yardımıyla hidrokömür boyutu 100 µm'nin altına düşürülmüştür. Elde edilen kayısı çekirdeği hidrokömürü (KKH) elenmiş ve daha sonra kullanılmak üzere koyu renkli, kapaklı şişelerde saklanmıştır.



Şekil.3.2. Kayısı çekirdeğinin hidrokömür sentez basamakları görüntüsü

3.4. Starter kültürün (SK) Hazırlanması

Yoğurt starter kültürü (*L. delbrueckii subsp bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşları) starter kültür olarak kullanılmıştır. Kültürlerin canlılığı MRS agar üzerine ekim yapılarak kontrol edilmiştir. Hazır kültürler 10 mL MRS broth (amonyum sitrat veya sodyum asetat içermeyen) içinde 48 saat boyunca 37 °C'de anaerobik olarak büyütülmüştür. SC süspansiyonları modifiye MRS agar plakalarının yüzeylerine yayılmış ve anaerobik koşullarda 37 °C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bakterilerin inoküle edildiği cam tüpler (MRS broth) ve petri kapları (MRS Agar) içinde mum bulunan kavanoza yerleştirilmiştir. Mum yakılmış ve kapak sıkıca kapatılmış, böylece anaerobiyoz başlatılmıştır (Şekil 3.1 (1) (Halдар vd., 2017).



Şekil 3.3. Laktik asit bakterilerinin anaerobiyoz ortamı (1), üreme kontrollerinin yapılması (2).

Petridelerde üremeleri gözlenen bakteriler, birkaç pasajdan sonra, deneylerde kullanılmak üzere %10'luk glikozlu ortamda -20°C'de saklanmıştır.

3.5. SK'nin *O. Munzurenze* Uçucu Yağ Emülsiyonu ile Kapsüllemesi

İlk olarak, 100 µL tween 80 ve 100 µL *O. munzurense* birleştirilerek ve ultrasonik karıştırıcı ile karıştırılarak *O. munzurenze* EO'nun mikroemülsiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Starter kültürü EO ile kaplamak için: Mikroemülsifiye EO, önceden McFarland 0,5'e ayarlanmış 100 µL SC çözeltisi ile karıştırılmış ve tüm örnekler ultrasonik karıştırıcı ile 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. SC içermeyen mikroemülsiyonlar kontrol olarak kullanılmıştır (%0 v/v). Nihai numuneler (Enkapsüle starter kültür: EnSK) deneyler için bir dolapta (+4 °C) saklanmış ve tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.6. EnSK'nin Kayısı Çekirdeği Hidrokömürü Porlarına İmmobilizasyonu

Hidrokömür kullanmadan önce, 15 dakika boyunca laminer kabin içinde UV ile sterilize edilmiştir. Daha sonra, mikroemülsiyon ile kapsüllemiş bakterileri içeren polistiren tüplere belirli miktarlarda (0.01 g) hidrokömür eklenmiştir. Hidrokömür tüm emülsiyonu emene kadar bir vorteks ile karıştırılmıştır. Son haline getirilen numuneler ultrasonik karıştırıcı ile yeniden karıştırılmış ve bir liyofilizatör yardımıyla kurutularak deneyler için saklanmıştır. Liyofilizatör işleminden önce numuneler bir gün boyunca -80 °C'de saklanmış ve ardından 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulmuştur. Nihai numune (İmmobilize EnSK: ImEnSK) daha sonra +4 °C'de saklanmıştır.

3.6.1. ImEnSK'nin Karşılaştırmalı Karakterizasyon Analizi

ImEnSK kurutulduktan sonra preparatlar SEM mikroskobu, FTIR ve EDS kullanılarak analiz edilmiştir.

3.6.1.1. ImEnSK'nin SEM Analizi

KH, EnSK, EnImSK mikroskobik görüntülemeye önce 60-mbar basınç altında sıvı CO₂ içinde 'kritik noktada' kurutulmuş ve püskürtme yoluyla platin kaplı hale getirilmiştir (EMITECH K850), Quorum 150 R ES). Ardından, preparatlar SEM cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Çok sayıda mikro ölçekli görüntü arasından en iyi görüntüler seçilmiştir.

3.6.1.2. ImEnSK'nin FTIR Analizi

KKH ve EnImSK'nin FT-IR spektrumları ATR modunda FT-IR kullanılarak analiz edilmiştir ve spektral ölçüm aralığı $4000-500\text{ cm}^{-1}$ 'dir . KKH ve EnImSK'deki açıl grupları, aromatik ve fenil gibi biyoaktif bileşikler FT-IR spektrumlarına göre belirlenmiştir (Erdogan Eliuz ve Yabalak, 2022).

3.6.1.3. İmmobilize/kapsüllenmiş SK'nin EDS analizi

KKH, EnSK, ve EnImSK'nin elemental bileşimi enerji dağılımlı spektroskopi ile değerlendirilmiştir. Bu analiz, KKH, EnSK, ve EnImSK'de bulunan C, N, O, Na, P ve K bileşimini tanımlamak için gerçekleştirilmiştir. Analiz, numune üzerine bir taramalı elektron ışını gönderilerek gerçekleştirilmiştir.

3.7. ImEnSK'de Starter Kültürlerin Canlılık Kontrolü

SK hücre sayıları MRS agar plakalarındaki kolonilerin sayılmasıyla hesaplanmış ve mL başına koloni oluşturan birim (cfu/mL) olarak ifade edilmiştir. Deney için 0,1 g SK, EnSK ve EnImSK preparatı alınmış ve 9,9 mL sodyum sitrat çözeltisi (0,06 mol/L) içinde süspanse edilmiş, tam homojenizasyon için karıştırılmış ve $\frac{1}{4}$ kuvvetinde Ringer çözeltisi içinde seri olarak seyreltilmiştir. SK, EnSK ve EnImSK'deki hücrelerin hayatta kalması MRS agara yayılarak ve anaerobik koşullar altında $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saatlik inkübasyondan sonra koloni izlemesi yapılarak belirlenmiştir (Hou vd., 2003). Yüksek asitli mide koşullarını taklit etmek için (gastrointestinal koşullu), MRS agar ortamının pH'ı 2,0 veya 3,5'e ayarlanmıştır ve emülsiyondaki hücreler bu ortama ekilmiştir ve 37°C 'de inkübe edilmiştir. 24-48 saat sonunda koloni sayımları yapılmıştır (Dimitrellou ve ark., 2019).

3.8. ImEnSK'ün Kuyucuk Difüzyon Yöntemine Göre Antibakteriyel aktivitesi

Bu test uçucu yağa bağlı SK'ün ve ardından hidrokömür porlarına yerleşmiş ürünün bazı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesini ölçmek için yapılmıştır. Deney öncesi patojen bakteriler TSA besiyerine besiyerine inoküle edilmiştir ve 37°C 'de 18-24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bir günlük inkübasyon sonunda agar plağındaki 1 veya 2 koloniden doğrudan alınarak serum fizyolojik ile McFarland (Bakteriler için $\sim 10^4$ CFU) ayarlanmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*'dir. Pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotik Ampisilin'dir. Agar kuyucuk difüzyon yöntemine göre; McFarland 0.5'e göre ayarlanmış belirli miktardaki mikroorganizma çözeltisi, Mueller Hinton Agarlı petriye yayılmıştır ve petrinin ortasına 6-mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyucuk 50 μL örnek ekstraktları ile doldurulmuştur ve $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde,

inhibisyon bölgelerinin çapları milimetre cinsinden hesaplanmıştır. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanıldı ve tüm testler üç kez tekrarlanmıştır (Erdoğan Eliuz, 2022)

3.9. İstatistiksel Analizler

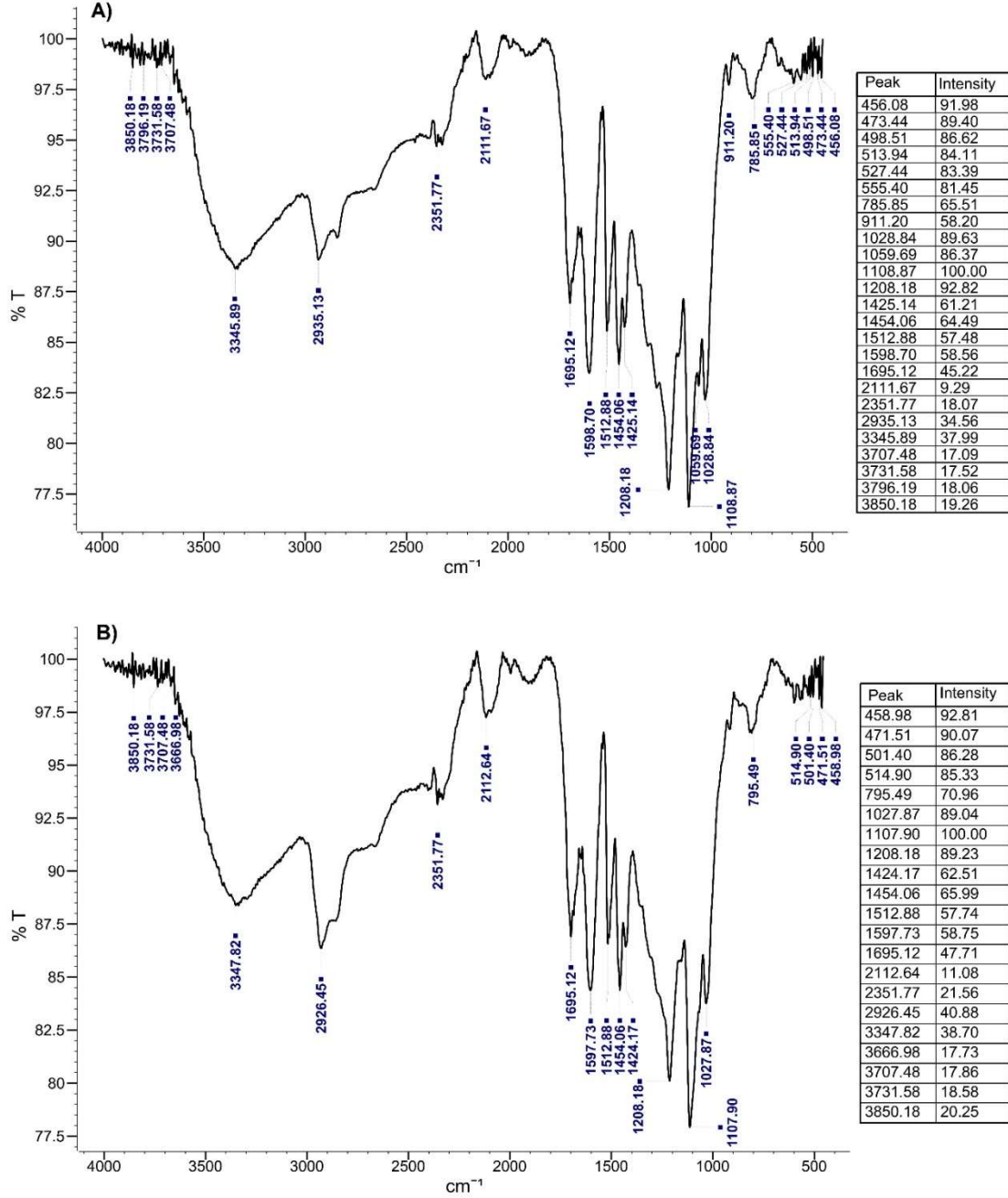
Tüm deneylerin istatistiksel analizleri post-hoc Tukey HSD Testi ile Tek yönlü ANOVA ile gerçekleştirilmiştir ($p < 0.05$).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Hidrokömür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin FT-IR Analizi

EnSK'nin *O. munzurense* ile birleştirilmiş kayısı çekirdeği kabuğu hidrokömüründeki bağlantısı FT-IR ile değerlendirilmiştir. Tek başına KKH ve EnImSK'nin FT-IR spektrumları Şekil 4'de gösterilmiştir. Görülebileceği gibi, KKH'de (Şekil 4, A) ve EnImSK'de (Şekil 4, B) benzer sayılarda bantlar sergilenmiştir.

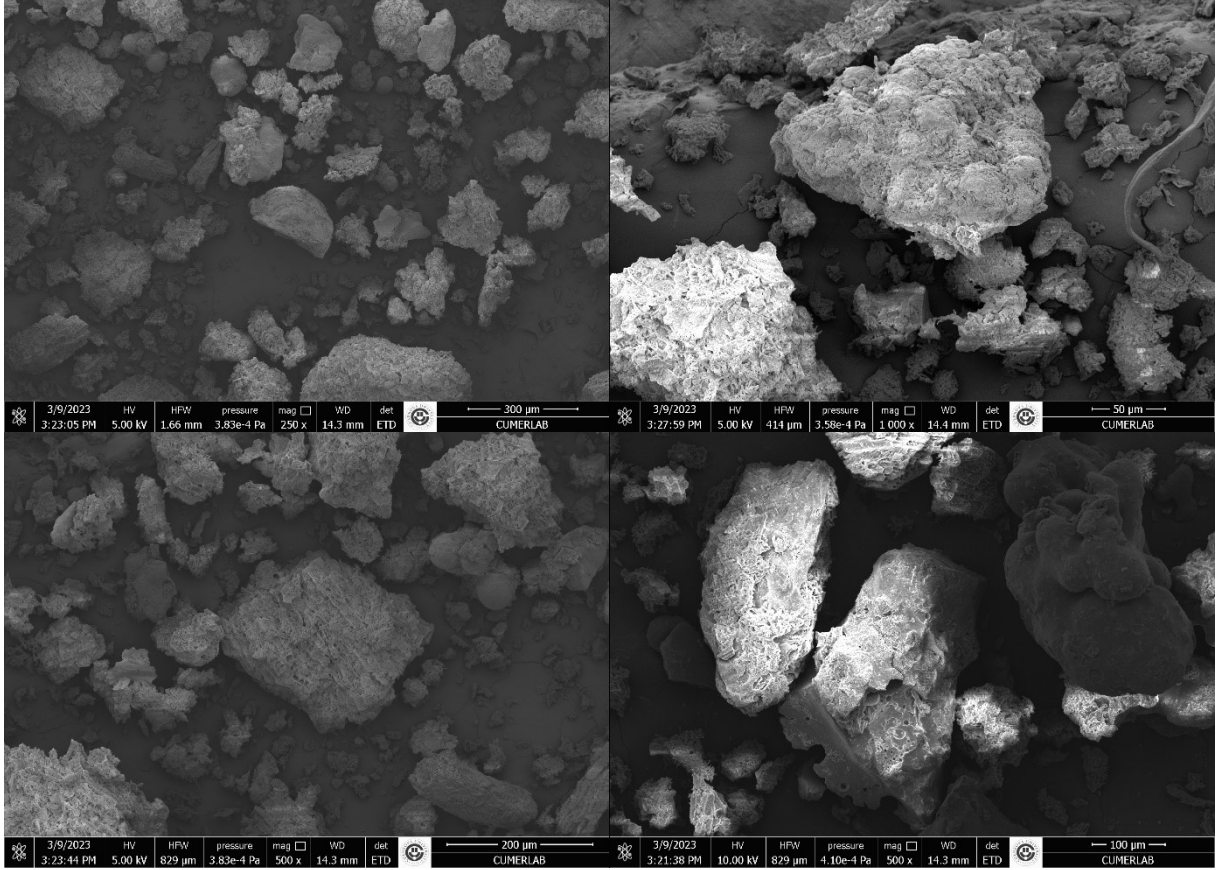


Şekil 4.1. KKH (A) ve EnImSK'nin (B) FT-IR spektrumları

Şekil 4.1., KKH ve EnImSK'nin karşılaştırmalı FTIR parmak izini göstermektedir. 400-3850 cm^{-1} bölgesindeki parmak izi genel olarak numuneler için benzerdir, ana farklılıklar pik yoğunluklarında gözlenmiştir, EnImSK 1695.12 ila 2926.45 cm^{-1} arasında biraz daha yüksek pik yoğunluklarına sahiptir. Bu bölgeler KKH ve EnImSK'de sırasıyla 2935.13 cm^{-1} (%34) ve 2926.45 cm^{-1} (%40) C-H gerilmesi olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde, KKH ve EnImSK'de sırasıyla 2351.77 cm^{-1} (%18) ve 2351.77 cm^{-1} (%21)'de O=C=O gerilmesi; 2111.67 cm^{-1} (%9) ve 2112.64 cm^{-1} (%11)'de N=C=S gerilmesi; 1695.12 cm^{-1} (%15) ve 1695.12 cm^{-1} (%47)'de C-H bükülen aromatik bileşik tespit edilmiştir. Dziuba ve arkadaşları (2007) laktik asit bakterilerini analiz etmiş ve 1500 cm^{-1} ile 3100 cm^{-1} arasında *Streptococcus* ve *Lactobacillus* türleri için sırasıyla 4,3 ve 5,1 ortalama yoğunluk değerleri bulmuştur. Bu, EnImSK örneğindeki artan yoğunlukla örtüşebilir. Mikroemülsiyon halinde olan *O. munzurenze* uçucu yağı, muhtemelen 1000 cm^{-1} 'nin altından daha küçük pikler halinde hidrokömür içinde dağılmış olabilir. Uçucu yağ mikroemülsiyonları çok zayıf piklere sahip olan C-H bükülme yapısında bileşikler olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, Thymol nanoemülsiyonu FTIR spektrumunda fark edilebilir bir pik göstermemiştir (Kumari vd., 2018). KKH ve EnImSK'de 1000 cm^{-1} altındaki bantlar izoprenoidlere (C-O) atfedilmiştir ve birçok C-H deformasyon bandı mevcuttur. Her iki örnekte de yoğunluklar ve birbirine çok yakın bantlar belirlenmiştir. O-H gerilmesi (moleküller arası bağ) 4000-3000 cm^{-1} 'de (KKH'de 3850.18, 3796.19, 3731.58, 3707.48, 3345.89 cm^{-1} ; EnImSK'de 3850.18, 3731.58, 3707.48, 3666.98, 3347.82 cm^{-1}), CN KKH'de 1598.70 cm^{-1} 'de ve 1597.73 cm^{-1} 'de; KKH'de 1512.88 cm^{-1} 'de ve EnImSK'de 1512.88 cm^{-1} 'de C-N gerilmesi; KKH'de 1454.06 cm^{-1} 'de ve EnImSK'de 1454.06 cm^{-1} 'de alkan metil grubu bükülmesi ve 1208.18 cm^{-1} 'de asit veya ester her iki örnekte de tespit edilmiştir. KKH ve EnImSK'de sırasıyla 1108.87 cm^{-1} ve 1107.90 cm^{-1} 'de amino asit veya tersiyer alkol (O-H ve N-H) ve KKH'de 1059.69 cm^{-1} 'de C-O birincil alkol eğilme titreşimi tespit edilmiştir (Thummajitsakul vd., 2020; Erdoğan, Eliuz ve Yabalak, 2022).

4.2. Hidrokömür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin SEM Analizi

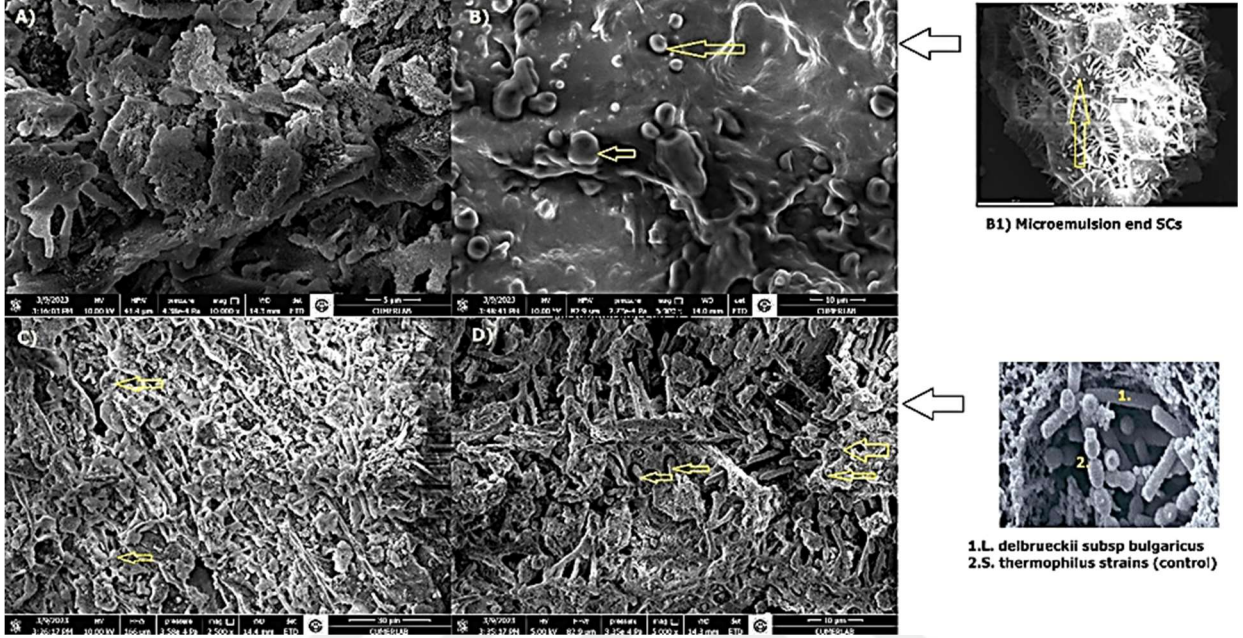
Çalışmada, hidrokömür hidrocharının SEM analizleri, yapının katmanlı ve porlu olduğunu göstermiştir (Şekil 4.2.). Düzensiz, dağınık, katmanlı ve kuru yapısı hidrokömürü uygulama alanını genişletebilir. Son yıllarda lignoselülozik olmayan biyokütlenin biyokömür ve hidrokömür olarak kataliz ve enerji depolama gibi çeşitli alanlarda kullanımına olan ilgi artmıştır. Lignoselülozik özelliği olmayan biyokömürlerin süperkapasitörler, enerji depolaması ve absorpsiyon gibi uygulama örnekleri yaygındır (Yabalak, Erdogan Eliuz, 2023) .



Şekil 4.2. Kayısı çekirdeği kabuğu hidrokömürünün SEM görüntüsü.

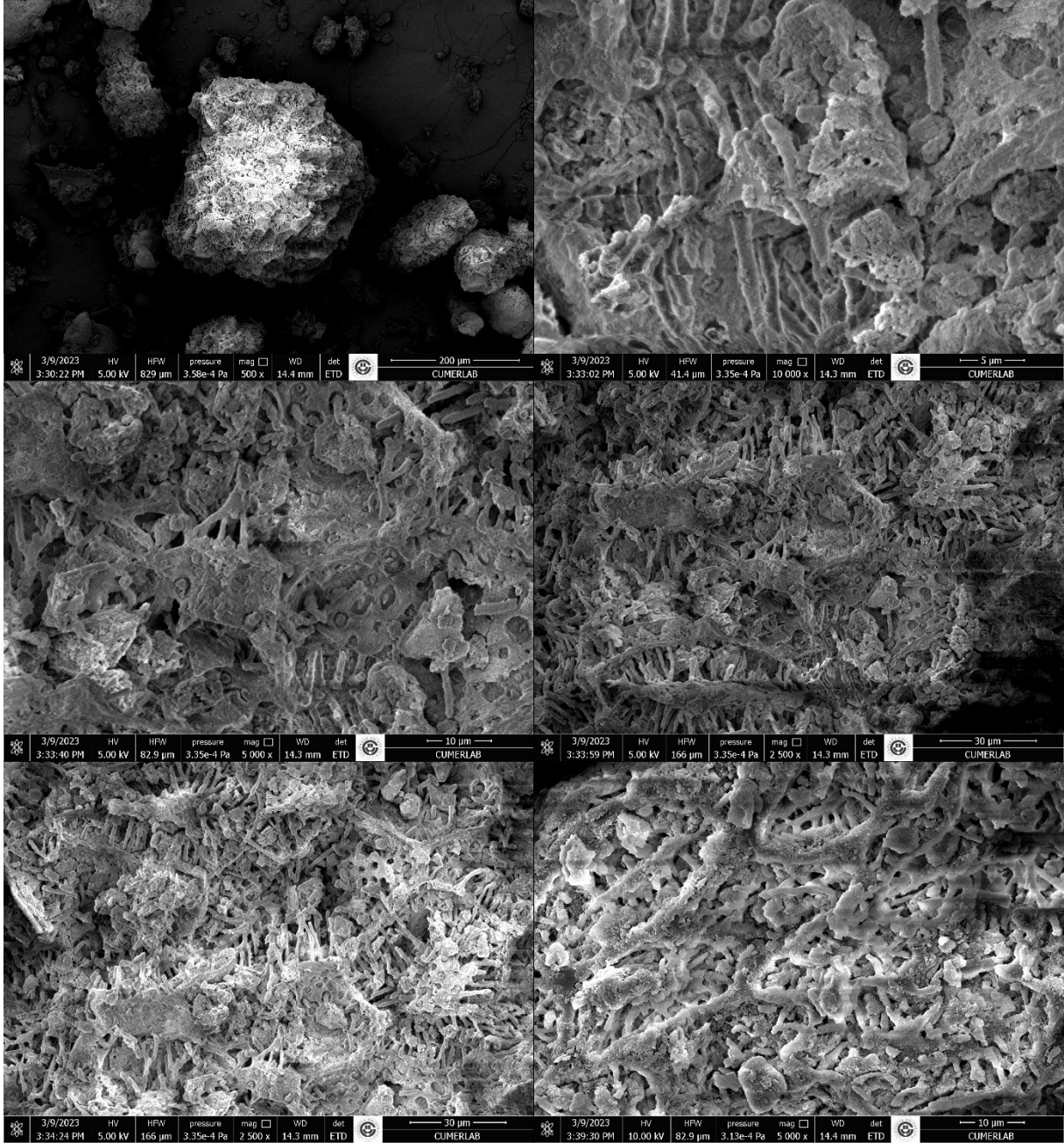
Enkapsüle-İmmobilize starter kültürün kayısı çekirdeği kabuğu hidrokömüründeki etkinliği SEM analizi ile değerlendirilmiştir. SEM görüntülerinde (Şekil 4.3.), KKH numunesinin şeklinin düzensiz boyutta, katmanlı ve dağınık olduğu gözlemlenmiştir (A). SK'lerin kapalı ve amorf bir yapı olarak *O. munzurensis* EO mikroemülsiyonu ile iç içe geçtiği görülmüştür (B). Benzer şekilde, Perumalsamy vd., (2022) *Origanum vulgare* uçucu yağından elde edilen nanoemülsiyonun topografik yapısının aglomerasyonlu küresel yapılar olarak gözlemlenmiştir. Nanoemülsiyonun bakteriler üzerindeki kısmi inhibisyon etkisinden kaynaklanabilecek mikroemülsiyon yapısında ara sıra bakteriyel kırılmalar da gözlemlenmiştir. *Origanum* türlerinin antimikrobiyal etkisi daha önce rapor edilmiştir (Bhargava vd., 2015). SK'ler hidrokömürün katmanlı ve gözenekli yapılarına yerleşmiş ve bazı yerlerde tek tek hücreler, bazı yerlerde ise kümeler şeklinde ortaya çıkmıştır (C). Mikroemülsiyon içinde asılı

kalan SK'ler ise hidrokömürün yapısına tutunarak hücrel formlarını korumuşlardır (D). Daha çok atık su çalışmalarında kullanılan biyokömürün katmanlı yapısı, katmanlar arasında besin tutma ve toplama gibi fiziksel avantajlar yaratması nedeniyle de önemli bir adsorbandır (Yang vd., 2020; He vd., 2022).



Şekil 4.3. KKH (A), EnSK (B), KKH*SK (C) ve EnImSK'nin (D) farklı büyütme oranlarına sahip SEM görüntüleri.

Kayısı kabuğu hidrokömürünün bakteriler ile inkübasyonu sonucunda bakterilerin hidrokömür katmanlarına yerleştiği görülmektedir (Şekil 4.4). Hidrokömürün bu katmanlı yapısının bakteriler için bir mikro ortam görevi gördüğü ve toprak mikroflorasının gelişimini desteklediği ileri sürülmektedir (Thunshirn vd., 2021). Genel olarak biyokömürlerin güçlü bir emici olması nedeniyle biyoaktif bileşikler iyi absorbe ettiği bilinmektedir. Bu nedenle, biyoaktif madde ile hidrokömür arasında iç içe geçen ve böylece kohezyonu artıran fizikokimyasal süreçler olmuş olabilir (Komnitsas ve Zaharaki 2016). Burada starter kültür bakterilerinin hidrokömür katmanlarına yerleştiğini SEM görüntüleri ile gösterdik. Literatürde bakterilerin kolayca katmanlara yerleştiğini gösteren çalışmalar, hidrokömürün gözenekli bir karbon malzeme olması nedeniyle SEM görüntülerimizi desteklemektedir (Feng vd., 2022; Li vd., 2022).



Şekil 4.4. Enkapsüle edilmiş laktik asit bakterilerinin farklı noktadaki görüntüleri

4.3. Hidrokömür Yüzeyinde İmmobilize EnSK'nin EDS Analizi

Elementel kompozisyon analizi sonucunda KKH (A), EnSK (B), KKH*SK (C) ve EnImSK'nin (D) kompozisyon yüzdeleri tanımlanmıştır. KKH, EnSK, KKH*SK ve EnImSK'nin EDS analizleri incelendiğinde birçok farklı element türüne rastlanmıştır (Tablo 4.1). Yüzey alanı ve içerdiği bileşen sayısı hidrokömürün uygulama potansiyelini belirlemede çok önemlidir.

Tablo 4.1. KKH, EnSK, KKH*SK, EnImSK'nin ağırlık (%W) ve Atomic (%A) oranları

Elementler	Örnekler							
	KKH		EnSK		KKH*SK		EnImSK	
	W %	A %	W %	A %	W %	A %	W %	A %
C	60.16	66.32	62.15	68.16	60.73	66.86	56.79	64.62
N	6.07	5.74	5.74	5.4	5.74	5.12	7.67	7.48
O	33.77	27.95	32.11	26.44	33.53	27.72	28.83	24.62
Na							2.67	1.59
P							1.76	0.78
S							1.44	0.61
K							0.84	0.29
Toplam	100							

Element analizinde, C, N ve O tüm örneklerde benzer oranlarda belirlenmiştir. KKH, EnSK, KKH*SK ve EnImSK'nin toplam C değerleri sırasıyla %60,16, %62,15, %60,73 ve %56,79 olarak bulunmuştur. Tüm örneklerde N değeri %5 ile %7 arasında değişmiştir. En yüksek O değeri %33,77 ile KKH'de bulunurken, en düşük O değeri %24,62 ile EnImSK'de gözlenmiştir. Na, P, S ve K elementleri hidrokömür, starter kültür bakterileri ve emülsiyonda birlikte tespit edilmiştir. Bu da EnImSK kompleksinde bazı biyokimyasal süreçler olduğunu göstermektedir. Literatürde, biyokömür ve hidrokömürlerin elementel analizi birçok spektroskopik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Biyokömür ve hidrokömürlerin elementel analizi birçok spektroskopik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Örneğin, *Brassica napus*, *Picea glauca*, *Triticum aestivum* bitkilerinden elde edilen biyokömürlerden C, N, O, H, N, S tespit edilebilmiştir (Nzediegwu vd., 2021). Bu elementler arasında, bu çalışmada KKH'de sadece C, N ve O tespit edilmiştir. Ayrıca, portakal kabuklarından elde edilen hidrokömürde yüksek bir O içeriği (yaklaşık %20) bulunmuştur (Espro ve ark., 2021). Bu raporla birlikte, KKH'de oksijen değeri %33,77 ile daha fazla bulunmuştur.

Bir mekanizma olarak, yüksek oksijen içeriği, hidrotermal karbonizasyonun düşük sıcaklığında birçok kalıntı oksijenli grubun yüzeyde tutulmasıyla ilişkilendirilmiştir (Espro ve ark., 2021). EnSC'de C (%62,15), N(%5,74), O (%32,1) ve KKH*SK bakterilerinde C (%60,73), N(%5,74), O (%33,53) güçlü piklerinin varlığı ve uçucu yağların hidrokarbon yapıları desteklenmektedir. *O. munzurenze* uçucu yağ içeriği daha önceki çalışmamızda GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Buna göre uçucu yağın ana bileşenleri 4-hidroksi-3-metilbenzaldehit (%44,84), timol (%14,59), karvakrol (%6,42) ve p-simen (%4,32) tespit edilmiştir (Yabalak vd., 2020). Bu bileşikler C ve H içeren hidrokarbon zincirlerinden oluşmaktadır (Eslahi vd., 2017).

4.4. KKH yüzeyinde immobilize EnSK'nin Hayatta Kalma Oranı

10 °C'de saklanan kapsüllü/immobilize ve serbest SK'lerin hayatta kalma oranı Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Serbest hücreler $1,5 \times 10^8$ 'den $6,5 \times 10^7$ cfu/mL'ye düşerken, mikrokapsüllenmiş SK'lerin canlı hücre sayısı 5 günlük saklama süresi boyunca $1,3 \times 10^8$ 'den $6,6 \times 10^7$ cfu/mL'ye düşmüştür. Kapsüllenmiş-immobilize SK hücreleri aynı koşullarda $1,1 \times 10^8$ 'den $7,2 \times 10^7$ cfu/mL'ye düşmüştür. Serbest SK'nin canlılığı ($6,5 \times 10^7$) 5 saat içinde yağ emülsiyonları içindeki bakterilerden ($6,6 \times 10^7$) önemsiz derecede farklı bulunmuştur. Buna karşılık, kapsüllenmiş/immobilize SK'nin koloni sayısı 5 saat içinde serbest SK'den daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 4.2. Kapsüllenmiş SK'lerin (EnSK), kapsüllenmiş-hareketsizleştirilmiş SK'lerin (EnImSK) ve 10 °C 'de depolama sırasında serbest SK'nin canlılığı (cfu/mL).

Canlılık						
Zaman (sa)	Free SK		EnSK		EnImSK	
0	$1,5 \times 10^8$		$1,3 \times 10^8$		$1,1 \times 10^8$	
1	$1,3 \times 10^8$		$7,7 \times 10^7$		$7,1 \times 10^8$	
3	$6,6 \times 10^7$		$7,1 \times 10^7$		$5,9 \times 10^7$	
5	$6,5 \times 10^7$		$6,6 \times 10^7$		$7,2 \times 10^6$	
İnkübasyon süresi (Sa)						
pH	1.		5.		1.	
2,0	$1,3 \times 10^8$	$1,1 \times 10^5$	$7,8 \times 10^7$	$7,7 \times 10^6$	$1,3 \times 10^8$	$1,9 \times 10^6$
3,5	$1,5 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$	$7,9 \times 10^7$	$1,6 \times 10^6$	8×10^7	$6,9 \times 10^7$

Enkapsüle-immobilize SK ve serbest SK, bakterilerin asidik koşullardaki potansiyel dayanıklılığını değerlendirmek için ayrı ayrı yüksek asit içeren in vitro simüle gastrointestinal ortam koşullarına maruz bırakılmıştır. Enkapsüle ve enkapsüle-immobilize SK'lerin pH 2.0'deki canlı hücre sayısı 5. saatte sırasıyla $\sim 10^1$ ve $\sim 10^2$ kat azalmıştır. pH 2,0'deki 5. saatin sonunda serbest SK'nin canlı hücre sayısı pH 3,5'dekine kıyasla önemli ölçüde azalmıştır ($\sim 10^3$). Benzer şekilde, azalma kapsüllenmiş ($\sim 10^1$) ve kapsüllenmiş-immobilize ($\sim 10^2$) SK'lerde de görülmüştür, ancak serbest SK'lerden daha fazla değildir. Enkapsüle SK'nin canlılığı 1. ve 5. saatlerde sırasıyla $1,3 \times 10^8$ ve $6,6 \times 10^7$ iken, enkapsüle-immobilize SK'nin canlılığı $1,1 \times 10^8$ ve $7,2 \times 10^6$ olmuştur. Çalışmamızda, hem serbest bakterilerde hem de immobilize bakterilerde bir azalma görülmesine rağmen, genel bakteri canlılığı istikrarlı bir şekilde devam etmiştir. Bunun nedeni, uçucu yağ emülsiyonunun veya hidrokarbonun kalıcı bir inhibitör etkiye sahip olmamasıdır. Hou ve arkadaşları (2013) uçucu yağ emülsiyonu içindeki bakterilerin zaman içinde çoğaldığını göstermiştir. Ayrıca, 4 °C'de 16 gün boyunca depolanan *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*'un canlılığının susam yağı emülsiyonu kapsüllemesinden sonra %0,023'ten %5,45'e önemli

ölçüde arttığını doğrulamışlardır (Hou vd., 2013). Buna karşın, başka bir çalışmada laktik asit bakteri sayısının hem esansiyel yağ/pektin kaplama hem de depolama işlemlerinden sonra önemli ölçüde etkilendiği bildirilmiştir (Gedikoğlu 2022). Muhtemelen bu durum bakterilerin emülsiyonda bulunan bileşiklere veya pH'a karşı ne kadar toleranslı olduğuyla ilgili olabilir. Uçucu bileşiklerin ve mikrobiyal bazlı enzimatif aktivitenin varlığının bakterilerin canlılığını belirleyeceği açıktır (Fang ve ark., 2018; Xiong ve ark. (2020). Hidrokömür yapısına immobilize edilen SK'lerin inkübasyon sonunda hayatta kalma potansiyelinin çok yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum, SK'lerin hidrokömürü bir konak olarak kullandığını ve mikro besinlerinden faydalandığını göstermiştir.

4.5. KKH yüzeyinde immobilize EnSK'nin Antibakteriyel Aktivitesi

Yapılan çalışmada, KKH, EnSK ve ImEnSK'ün *S. aureus*, *E.faecalis*, *A. baumannii*, ve *E. coli* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etki görülmemiştir (Tablo 4.3.). Bu durum, hidrokömürün ve uçucu yağ nanoemülsiyonlarının çalışılan bakteriler için antimikrobiyal birer ajan olmadığını göstermektedir. Ancak literatürde, *Origanum* türlerinin uçucu yağın tek başına güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bir çok yayımla belirlenmiştir (Aligiannis ve ark., 2001 ; Soltani, vd., 2021).

Tablo 4.3. KKH, EnSK ve ImEnSK'ün bazı patojenlere karşı inhibisyon zonları (IZ)

Bakteriler	KKH	EnSK	ImEnSK	Ampisilin
<i>S. aureus</i>	0± 0,0	0± 0,0	0± 0,0	25,5± 0,0
<i>E.faecalis</i>	0± 0,0	0± 0,0	0± 0,0	14,5± 0,0
<i>A. baumannii</i>	0± 0,0	0± 0,0	0± 0,0	12,5± 0,0
<i>E.coli</i>	0± 0,0	0± 0,0	0± 0,0	9,9± 0,0

Bu durum, bu çalışmada, uçucu yağların nanoemülsiyon halinde antimikrobiyal etkisinin zayıfladığını göstermektedir. Diğer bir olasılık ise, kullanılan uçucu yağ emülsiyon miktarının oldukça az olması ile ilişkilendirilebilir. Çünkü, literatür, nanoemülsiyonların da antimikrobiyal ajanlar olduklarını göstermiştir (Yazgan, 2020; Özogul, vd., 2022).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşları *O. munzurenze* EO mikroemülsiyonu ile enkapstüle edilmiştir. Elde edilen kompleks kayısı çekirdeği hidrokömürü üzerine immobilize edilmiştir. Nihai ürünlerin (EnImSK) elementel analizinde; C, N, O, P, Na, S ve K elementleri tespit edilmiştir. EnImSK'nin normal koşullar altında ve asidik ortamda 5 saat boyunca canlı kalabildiği belirlenmiştir. Starter kültürün biyoyararlılığı göz önüne alındığında, mikroemülsiyona bağlanan ve hidrokömür katmanlarına yerleşen bakterilerin canlılığı bir avantaj gibi görünmektedir. Hidrokömürde olası fenol, karbon materyali ve diğer minör bileşenler laktik asit bakterileri için toksik değil, tam aksine mikroorganizmalar için yaşamsal faaliyetlerinin stabil bir şekilde devam etmesini sağladığı bir ortam olmuştur. Ayrıca, hidrokömürlerin katmanlı ve porlu yapısı sayesinde bakteriler için bir konak ortamı oluşmuştur. Bu durum, hidrokömürlerin tek hücre proteini yada diğer bir çok biyoaktif maddelerin immobilize edilebildiği bir madde olabilir.

Gelecekte, fonksiyonel gıdalar, takviye edici gıda alanlarında bir katkı maddesi veya destek materyali olarak kullanılabilir. Giderek önemi artan tek hücre proteini araştırmalarına katkıda bulunabilir. Aynı zamanda, uçucu yağların besinsel önemi de iyi bilinmektedir. Bu nedenle, elde edilen kompleks yemlere katkı maddesi olarak veya toprağın besinsel zenginleştirilmesi için kullanılabilir.

Gıda kaynaklarının azalması, çevre kirliliği, iklim krizi gibi birçok sorunla baş etmenin yollarından birisi sürdürülebilir kalkınmadır. Bu nedenle, atık materyallerinin yeniden değerlendirilmesi, biyoaktif bişenlerin fonksiyonel gıdalara dönüştürülmesi ve yeni-sürdürülebilir metodların geliştirilmesi üzerinde en çok çalışan konular olmuştur. Bu çalışma, bir atık ürünü olan kayısı çekirdeği kabuğunun, bakteriler ve uçucu yağ varlığında yeni bir kompozite dönüşmüştür. Hayvan yemleri başta olmak üzere, toprak iyileştirme veya kozmetik alanlarında kullanılabilir. Uygulama alanlarının geliştirilmesi konusunda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abriouel, H., Benomar, N., Cobo, A., Caballero, N., Fuentes, M.A.F., Pérez Pulido, R. ve Gálvez, A. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from naturally fermented Manzanilla Aloreña green table olives. *Food Microbiology*, (32), 308-316.

Acar Soykut, E. ve Tunail, N. (2009). Süt endüstrisinde sorun yaratan termofilik fajlar. *Gıda*, 34(2), 107-113.

Aliyiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), 4168-4170.

Anal, A.K., Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*, 18(5), 240-251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>.

Arituluk ZC, Ezer N., (2012). Halk Arasında Diyabete Karşı Kullanılan Bitkiler (Türkiye)-II. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 179-208.

Aruoma, O. I., Spencer, J. P., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N. ve diğerleri. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 34(5), 449-456. doi:10.1016/0278-6915(96)00004-x

Aryana, K.J.; Olson, D.W. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *J. Dairy Sci.* (2017). 100, 9987–10013.

Atiş, E. Apricot Producing in Kağızman District and Its Contribution to the Economy of Territory, *Marmara Geographical Review* (2017).36(36),191-205.

Aydın, F., Çakır, İ. (2022). Gıda Teknolojisinde Kullanılan Starter Mikroorganizmalar. In: *Ensütriyel Gıda Üretim Teknikleri*. 1. Basım. Ed.: Pınar Şanlıbaba, Yağın Güçer. Nobel

Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti. Ankara, Türkiye, pp 19-38. ISBN: 978-625-417- 615-9.

Basmacıoğlu, H., Ergül, M. Silaj mikrobiyolojisi. Hayvansal Üretim (2002). 43(1),12-24.

Baysal, G., (2020). Gıda endüstrisinde nanosistemlerin kullanımı. Gıda, 45 (3), 517-529.

Baytop, T. (1984). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavide (Geçmişte ve Bugün). İ.Ü.Yay.No:3255, Ecz.Fak.No:40.İstanbul.

Belda, R. M., Lidón, A., Fornes, F. (2016). Biochars and Hydrochars as Substrate Constituents for Soilless Growth of Myrtle and Mastic, Industrial Crops and Products, 94, 132-142. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.024>

Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F. ve diğerleri (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nature Reviews Microbiology, 13(5), 310-317. doi:10.1038/nrmicro3439.

Bhargava, K., Conti, D. S., da Rocha, S. R., & Zhang, Y. (2015). Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. Food microbiology, 47, 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.007>.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665-684. <http://dx.doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665> [PMid:31294241](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31294241/)

Bozin, B., Mimika-Dukic, N., Simin, N. and Anackov, G.,(2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Journal Agricultural and Food Chemistry, 54, 1822-1828.

Canon, F., Nidelet, T., Guédon, E., Thierry, A., and Gagnaire, V. (2020). Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria cocultures. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2088. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>

Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken R., Watkins, R., (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25 (3), 241-258.

Chen, T., Wang, L., Li, Q., Long, Y., Lin, Y., Yin, J., ... and Yang, H. (2020). Functional probiotics of lactic acid bacteria from Hu sheep milk. *BMC microbiology*, 20(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01920-6>.

Chen, W. (2019). *Lactic Acid Bacteria; Omics and Functional Evaluation*; Springer Nature Singapore Pte, 134(7832), 978-981.

Cheng, F., & Li, X. (2018). Preparation and application of biochar-based catalysts for biofuel production. *Catalysts*, 8(9), 346.

Chuntanapum, A. Matsumura, Y. (2009) Formation of tarry material from 5-HMF in subcritical and supercritical water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48, 9837–9846. <https://doi.org/10.1021/ie900423.g>.

Cruz, A. G., Cadena, R. S., Walter, E. H., Mortazavian, A. M., Granato, D., Faria, J. A., & Bolini, H. (2010). Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 358-373. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00115.x>

Daba, G.M., Elnahas, M.O., Elkhateeb, W.A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 173, 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.110>

Davis P.H. (1982). *Flora of Turkey and East Eagean Island Vol.7*, University of Edinburg Press, Edinburg, 297.

Demirgöl, F., Sağdıç, O. (2017). Laktik starter kültür üretim teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 27-37.

Dimitrellou, D., Kandyliş, P., Lević, S., Petrović, T., Ivanović, S., Nedović, V., & Kourkoutas, Y. (2019). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 in alginate capsules for probiotic fermented milk production. *LWT*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108501>

Dion, M., Luykx, A.M., Peters, R.J.B., Van Ruth, S.M., Bouwmeester, H., (2008). A review of analytical methods for the identification and characterization of nano delivery systems in food. *Journal Agriculture Food Chem.* 56, 8231-8247.

Dorman, H. J. D., Bachmayer, O., Kosar, M. ve Hiltunen, R. (2004). Antioxidant properties of aqueous extracts from selected lamiaceae species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 762-770. doi:10.1021/jf034908v

Dorman, H. J. ve Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316. doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x

El-Adawy TA, Rahma EH, El-Badawey AA, Gomaa MA, Lászity R, Sarkadi L. Biochemical studies of some non-conventional sources of proteins Part 7, Effect of detoxification treatments on the nutritional quality of apricot kernels, *Food / Nahrung* (1994).38,12–20.

Erdoğan Eliuz, E. A. (2022). Antibacterial activity and antibacterial mechanism of ethanol extracts of *Lentinula edodes* (Shiitake) and *Agaricus bisporus* (button mushroom). *International Journal of Environmental Health Research*, 32(8), 1828-1841.

Erdogan Eliuz E. A. , Yabalak, E. (2022). Chicken feather hydrochar incorporated with phenolic extract of *Rosa damascena* Mill. to enlarge the antibacterial performance against *Acinobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108289. doi:10.1016/j.jece.(2022).108289.

Ersoy H., (2009). EDTU Herbaryumu'nda Bulunan Lamiaceae (Ballıbabgiller) Familyasının Revizyonu. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne

Eslahi, H., Fahimi, N., & Sardarian, A. R. (2017). Chemical composition of essential oils. *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications*, 119-71.

Espro, C., Satira, A., Mauriello, F., Anajafi, Z., Moulae, K., Iannazzo, D., & Neri, G. (2021). Orange peels-derived hydrochar for chemical sensing applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 341, 130016. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130016>.

Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamakrishnan, C. (2012). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food bioprocess technol*, 6, 628-647

Fang, J., Dişi H., Zhan, L., Tamam Y.S., Gao, B., (2018). Minireview of potential applications of hydrochar derived from hydrothermal carbonization of biomass, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 57, 15-21.

Fang, Z., Lin, D., Warner, R. D., & Ha, M. (2018). Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging. *Food Chemistry*, 260, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.005>.

Feng Y., Du H., Wulandari T., Poinern G.E.J., Jiang Z.T., Fawcett D., Hassan N., Xue L., Yang L. Hydrochar amendments stimulate soil nitrous oxide emission by increasing production of hydroxyl radicals and shifting nitrogen functional genes in the short term: A culture experiment *Chemosphere*, 302 (2022), Article 134771, [10.1016/j.chemosphere.2022.134771](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134771)

Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López J., Pérez-Alvarez, J.A. (2011). Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch - Stärke*, 63 (7), 406-415. <https://doi.org/10.1002/star.201000099>.

Garai-Ibabe, G., Dueñas, M.T., Irastorza, A., Sierra-Filardi, E., Werning, M.L., López, P., Corbí, A.L., De Palencia. (2010) P.F. Naturally occurring 2-substituted (1, 3)- β -D-glucan producing *Lactobacillus suebicus* and *Pediococcus parvulus* strains with potential utility in the production of functional foods. *Bioresource Technology*. 101 (23), 9254-9263. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.050>

Gedikoğlu, A. (2022). The effect of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and/or extracts in pectin edible coating on the preservation of sliced bolognas. *Meat Science*, 184, 108697. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108697>.

Ghadetaj, A., Almasi, H., Mehryar, L. (2018). Development and Characterization of Whey Protein Isolate Active Films Containing Nanoemulsions of *Grammosciadium ptrocarpum* Bioss. Essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*. 16, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.012>.

Gunaratne, P., Kottegoda, N., Madusanka, N., Munaweera, I., Sandaruwan, C., Priyadarshana, Wmgi., Siriwardhana, A., Madhushanka, B., Rathnayake, U., Karunaratne, V. (2016). Two new plant nutrient nanocomposites based on urea coated hydroxyapatite: efficacy and plant uptake. *Indian journal of agricultural sciences*, 86 (4), 494-499.

Haldar, J., Mukherjee, P., Mukhopadhyay, S., & Maiti, P. K. (2017). Isolation of bacteria from diabetic foot ulcers with special reference to anaerobe isolation by simple two-step combustion technique in candle jar. *The Indian Journal of Medical Research*, 145(1), 97. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1436_14.

Hamad, A.F., Han, J.H., Kim, B.C., Rather, I.A., (2018). The intertwine of nanotechnology with the food industry. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25 (1), 27-30.

Harley RM, Aktins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, Kok R, Krestovskaja T, Morales R, Paton AJ, Ryding O, Upson T., (2004). The Families and Genera of Labiatae. 167-225, içinde; *Flowering Plants-Dicotyledons* (eds: J.W. Kadereit). Springer, Hamburg.

He, M., Xu, Z., Hou, D., Gao, B., Cao, X., Ok, Y. S., ... & Tsang, D. C. (2022). Waste-derived biochar for water pollution control and sustainable development. *Nature Reviews Earth & Environment*, 3(7), 444-460. <https://doi.org/10.1038/s43017-022-00306-8>.

Hemmatkhah, F., Zeynali, F., Almasi, H. (2020). Encapsulated Cumin Seed Essential Oil-Loaded Active Papers: Characterization and Evaluation of the Effect on Quality Attributes of Beef Hamburger, *Food and Bioprocess Technology*, 13, 533-547. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02418-9>.

Hou, R. C. W., Lin, M. Y., Wang, M. M. C., Tzen, J. T. C. (2003). Increase of Viability of Entrapped Cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Artificial Sesame Oil Emulsions. *Journal of Dairy Science*, 86, 424-428. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73620-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73620-0)

Ietswaart JH (1980) A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Leiden University Press, The Hague <https://doi.org/10.1007/978-94-009-9156-9>

Islam, A., Limon, S. H., Romić, M., Islam, A. (2021). Hydrochar-Based Soil Amendments for Agriculture: A Review of Recent Progress, *Arabian Journal of Geosciences*, 14, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s12517-020-06358-8>.

Juhaimi, F., Musa Özcan, M., Ghafoor, K., & Babiker, E. E. (2018). The effect of microwave roasting on bioactive compounds, antioxidant activity and fatty acid composition of apricot kernel and oils. *Food Chemistry*, 243, 414–419. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.100>

Kan T, Karaat FE. Farklı rakımlarda yetiştirilen bazı kayısı çeşitleri ile zerdali meyvelerinde fenolik bileşiklerin incelenmesi, *Yyü Tar Bil Derg.* 2019; 29(1), 88-93.

Kara B., (2006). Kronik Böbrek Yetmezliğine Bitkisel Ürünlerin Etkisi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 48, 189-193.

Karaman, S.,& Kocabas, Y. Z. (2001). Traditional medicinal plants of K. Maras (Turkey). *The Sciences*, 1(3), 125-128.

Karimirad, R., Behnamian, M., Dezhsetan, S. (2018). Development and Characterization of Nano Biopolymer Containing Cumin Oil as a New Approach to Enhance Antioxidant Properties of Button Mushroom. *International Journal of Biological Macromolecules*. 113, 662-668. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.043>.

Kavitake, D., Kandasamy S., Devi P.B., Shetty P.H. (2018).Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. *Food Bioscience*. 21, 34-44. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.11.003>.

Kılıç A. Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri) İzmir: Bilgehan Basımevi; (1986).

Kılıç, Ö. ve Bağcı, E. (2008). *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (C.Koch) Ietswaart'nin Uçucu Yağ Verimi, Kompozisyonu ve Çay olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması Üzerine Bir Çalışma. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh. Bil. Dergisi* 20 (1), 83–89.

Knez Hrnčič, M., Cör, D., Simonovska, J., Knez, Ž., Kavrakovski, Z., & Rafajlovska, V. (2020). Extraction techniques and analytical methods for characterization of active compounds in *Origanum* species. *Molecules*, 25(20), 4735. <https://doi.org/10.3390/molecules25204735>.

Komnitsas, K. A., & Zaharaki, D. (2016). Morphology of modified biochar and its potential for phenol removal from aqueous solutions. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 26. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00026>.

Krunić, T. Ž., Bulatović, M. L., Obradović, N. S., Vukašinović-Sekulić, M. S., & Rakin, M. B. (2016). Effect of immobilisation materials on viability and fermentation activity of dairy starter culture in whey-based substrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5), 1723-1729.

Kumar, S., Gupta, R. B. (2009). Biocrude production from switchgrass using subcritical water. *Energy Fuels*, 23, 5151–5159. <https://doi.org/10.1021/ef900379p>.

Kumari, S., Kumaraswamy, R. V., Choudhary, R. C., Sharma, S. S., Pal, A., Raliya, R., ... & Saharan, V. (2018). Thymol nanoemulsion exhibits potential antibacterial activity against bacterial pustule disease and growth promotory effect on soybean. *Scientific reports*, 8(1), 6650. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24871-5>.

LeBlanc, J., Laiño, J.E., del Valle, M.J., Vannini, V., van Sinderen, D., Taranto, M.P., de Valdez, G.F., de Giori, G.S., Sesma, F. (2011). B-Group vitamin production by lactic acid bacteria—current knowledge and potential applications. *Journal of Applied Microbiology*, 111(6), 1297-1309. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05157.x>

Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>.

Li X., Wang R., Shao C., Li D., Bai S., Hou N., Zhao X., Biochar and Hydrochar from Agricultural Residues for Soil Conditioning: Life Cycle Assessment and Microbially Mediated C and N Cycles *ACS Sustain Chem. Eng.*, 10 (2022), pp. 3574-3583, 10.1021/acssuschemeng.1c08074.

Li, H., Ho V.T.T., Turner, M.S. Dhital, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *LWT*. 74, 542-549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.019>

Linskens, H. F., Jackson, J.F, (1997b) .Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 12: Essential Oils and waxes, Springer, Germany.

Lisko, D.J.; Johnston, G.P.; Johnston, C.G. Effects of Dietary Yogurt on the Healthy Human Gastrointestinal (GI) Microbiome. *Microorganisms* 2017, 5.

Lourens-Hattingh, B.C. Viljoen Yoghurt as probiotic carrier food *International Dairy Journal*, 11 (2001), pp. 1-17

Marrelli, M., Statti, G. A., & Conforti, F. (2018). *Origanum* spp.: An update of their chemical and biological profiles. *Phytochemistry reviews*, 17, 873-888. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9566-0>.

Messi P, Bondi M, Sabia C, Batini R, Manicardi G. Detection and Preliminary Characterization of a Bacteriocin (Plantaricin 35d) Produced By a *Lactobacillus Plantarum* Strain. *International Journal of Food Microbiology* 2001; 64:193-198.

Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yılmaz, N., and Lotfi, A. (2020). Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 19(6), 3390-3415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>

Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., Durrieu, V. (2013) Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*. 42, 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.035>.

Nzediegwu, C., Naeth, M. A., & Chang, S. X. (2021). Elemental composition of biochars is affected by methods used for its determination. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 156, 105174. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105174>.

Oliveira MN, Sodini I, Remeuf F, Tissier JP, and Corrieu G, Manufacture of fermented lactic beverages containing probiotic cultures. *J Food Sci* 67, 2336–2340 (2002).

Ozdemir, M., Kemerli, T. (2016). “Innovative applications of micro and nanoencapsulation in food packaging,” in encapsulation and controlled release technologies in food systems, ed. J. M. Iakakis (Chichester: John Wiley & Sons, Ltd).

Özogul, Y., El Abed, N., & Özogul, F. (2022). Antimicrobial effect of laurel essential oil nanoemulsion on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. *Food Chemistry*, 368, 130831.

Pimchan, T., Cooper, C. J., Eumkeb, G. ve Nilsson, A. S. (2018). In vitro activity of a combination of bacteriophages and antimicrobial plant extracts. *Letters in Applied Microbiology*, 66(3), 182-187. doi:10.1111/lam.12838

Pirozzi, A., Del Grosso, V., Ferrari, G., & Donsì, F. (2020). Edible coatings containing oregano essential oil nanoemulsion for improving postharvest quality and shelf life of tomatoes. *Foods*, 9(11), 1605. <https://doi.org/10.3390/foods9111605>.

Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E. ve Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1645-1651. doi:10.1002/jsfa.1240

Popović, N., Brdarić, E., Đokić, J., Dinić, M., Veljović, K., Golić, N., & Terzić-Vidojević, A. (2020). Yogurt produced by novel natural starter cultures improves gut epithelial barrier in vitro. *Microorganisms*, 8(10), 1586.

Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Baines, S. K., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Pimentel, T. C., Wittwer, A. E., Naumovski, N., Graça, J. S., Sant'Ana, A. S., Ajlouni, S., & Vasiljevic, T. (2019). Probiotics in goat milk products: Delivery capacity and ability to improve sensory attributes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 867-882. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12447>.

Raj V, Jain A, Chaudhary J. *Prunus armeniaca* (apricot): An overview, *Journal of Pharmacy Research*, 2012;5(8),3964–3966.

Romulo, A., Zuhud, E. A. M., Rondevaldova, J. ve Kokoska, L. (2018). Screening of in vitro antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine. *Pharmaceutical Biology*,56(1), 287-293. doi:10.1080/13880209.2018.1462834

Saborido, R.; Leis, R. [Yogurt and dietary recommendations for lactose intolerance]. *Nutr. Hosp.* 2018, 35, 45–48.

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512–531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>

Sağdıç, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT - Food Science and Technology*, 36(5), 467-473. doi:10.1016/S0023-6438(03)00037-9.

Saleem, M. (2000). Chemical and biological screening of some relatives of lamiaceae (labiatae) family and marine alga *codium iyengarii*. Yayınlanmış PhD Thesis. University Of Karachi.

Saleh, M., Bilici, Z., Ozay, Y., Yabalak, E., Yalvac, M., Dizge, N. (2021). Green Synthesis of *Quercus coccifera* Hydrochar in Subcritical Water Medium and Evaluation of its Adsorption

Performance for BR18 dye, *Water Science and Technology*, 83, 701-714.
<https://doi.org/10.2166/wst.2020.607>.

Shah, N. P. (Ed.). (2017). *Yogurt in health and disease prevention*. Academic Press, London, United Kingdom. ISBN: 978-0-12-805134-4.

Shah, N. P. (2000). Probiotic Bacteria: Selective and enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*. 83, 894–907. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8).

Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T. P., Torres, C., Oliveira, A. M. P. ve diğerleri. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control*, 92, 516-522. doi:10.1016/j.foodcont.2018.05.031.

Soković, M., Tzakou, O., Pitarokili, D. ve Couladis, M. (2002). Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Die Nahrung*, 46(5), 317-320. doi:10.1002/1521-3803(20020901)46:5<317::AID-FOOD317>3.0.CO;2-B

Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcíacelma, M.J. (2005). Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 10, 102-110.
<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.06.004>.

Soltani, S., Shakeri, A., Iranshahi, M., & Boozari, M. (2021). A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of *Origanum vulgare* L. and Subspecies. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 20(2), 268.

Sozer, N, Kokini J.N., (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27 (2), 1-8

Stemann, J., Putschew, A., Ziegler, F., (2013). Hydrothermal carbonization: Process water characterization and effects of water recirculation. *Bioresource technology*, 2013. 143, 139-146.

Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M. ve diğerleri. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15(7), 549-557. doi:10.1016/j.foodcont.2003.08.009

Tamime, A. Y., Saarela, M. A. K. S., Sondergaard, A. K., Mistry, V. V., & Shah, N. P. (2005). Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. *Probiotic dairy products*, 3, 39-63.

Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, M., Polissiou, M. ve Sökmen, A. (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L var *bevanii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(11), 1389-1396. doi:10.1002/jsfa.1758

Thapa, B.B., Extraction of essential oil, National Workshop on Chemical Investigation and Processing of Aromatic Plants, Nepal, 71-81 (1989).

Thummajitsakul S., Samaikam S., Tacha S., Silprasit K. (2020). Study on FTIR spectroscopy, total phenolic content, antioxidant activity and anti-amylase activity of extracts and different tea forms of *Garcinia schomburgkiana* leaves. *LWT-Food Science and Technology*. 134, 110005, 10.1016/j.lwt.2020.110005.

Thunshirn, P., Wenzel, W.W., Pfeifer, C. (2021). Pore Characteristics of Hydrochars and Their Role as a Vector for Soil Bacteria: A Critical Review of Engineering Options. *Critical reviews in environmental science and Technology*, 1-25. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1974256>.

Tzen, J. T. C., Chuang, R. T. C., Chen, J. C. F., Wu, L. S. H. (1998). Coexistence of both oleosin isoforms on the surface of seed oil bodies and their individual stabilization to the organelles. *The Journal of Biochemistry*, 123, 319–324. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a021939>.

Uzunsoy, İ. (2018). Geleneksel yoğurt örneklerinden izole edilen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşlarının endüstriyel yoğurt üretimine

uygunluğunun saptanarak starter kombinasyonlarının geliştirilmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.

Ünal, O., Topcuoğlu, Ş. F. ve Gökçeoğlu, M. (2005). Antalya İli İçin Endemik Olan Origanum Türlerinin Biyolojik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(1), 1–14.

Vinicius De Melo Pereira, G., De Carvalho Neto, D. P., Junqueira, A. C. D. O., Karp, S. G., Letti, L. A., Magalhães Júnior, A. I., and Soccol, C. R. (2020). A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Reviews International*, 36(2), 135-167. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630636>

Wijesekera, R.O.B., Practical manual on the essential oils industry, agrotechnology, Processing, Quality Assesment, UNIDO, 100-121 (1993).

Xiong, Y., Li, S., Warner, R. D., & Fang, Z. (2020). Effect of oregano essential oil and resveratrol nanoemulsion loaded pectin edible coating on the preservation of pork loin in modified atmosphere packaging. *Food Control*, 114, 107226. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107226>.

Yabalak, E., & Eliuz, E. A. E. (2023). Hydrochar synthesis of from waste human hair, incorporation with phenolic extract of *Morus alba* and evaluation as a natural anti-*Staphylococcus aureus* agent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 192, 105804.

Yabalak, E., Erdogan Eliuz, E. A. (2022). Green Synthesis of Walnut Shell Hydrochar, its Antimicrobial Activity and Mechanism on Some Pathogens as a Natural Sanitizer, *Food Chemistry*, 366, 130608. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130608>.

Yabalak, E., Erdoğan Eliuz, E.A., Nazli, M.D. (2021). Evaluation of *Citrus reticulata* Essential Oil: Chemical Composition and Antibacterial Effectiveness Incorporated Gelatin on *E. coli* and *S. aureus*. *International Journal of Environmental Health Research*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/09603123.2021.1872059>.

Yabalak, E., Elnecar, F. (2021). "Synthesis of Hydrochars in Subcritical Water Medium from Solid Wastes and Investigation of Their Catalytic Effects in the Degradation of Malachite Green Using Advanced Oxidation Technique", *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13.

Yabalak, E., Elnecar, F. (2021a). Synthesis of hydrochars in subcritical water medium from solid wastes and investigation of their catalytic effects in the degradation of malachite green using advanced oxidation technique, *Biomass Conversion and Biorefinery*, <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01936-6> 1-13.

Yabalak, E., Elnecar, F. (2021b). Evaluation of watermelon peel, banana peel and bay leaves hydrochars as green catalysts in the degradation of malachite green by thermally activated persulfate oxidation method. *Journal of Environmental Management*. 304, 114311. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114311>

Yabalak, E., Emire, Z., Adıgüzel, A. O., Könen Adıgüzel, S., & Gizir, A. M. (2020). Wide-scale evaluation of *Origanum munzurense* Kit Tan & Sorger using different extraction techniques: Antioxidant capacity, chemical compounds, trace element content, total phenolic content, antibacterial activity and genotoxic effect. *Flavour and fragrance journal*, 35(4), 394-410. <https://doi.org/10.1002/ffj.3574>

Yang, H., Ye, S., Zeng, Z., Zeng, G., Tan, X., Xiao, R., ... & Xu, F. (2020). Utilization of biochar for resource recovery from water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 397, 125502. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125502>.

Yazgan, H. (2020). Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. *Lwt*, 130, 109669.

Yerlikaya, O., Saygılı, D., Akpınar, A. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology (Campinas)*. 41(2), 418-425. <https://doi.org/10.1590/fst.03920>.

Zhou, Y., Cui, Y., Qu, X. (2019) Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure, bioactivity and associations: a review *Carbohydrate Polymers*, 207, 317-332. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.093>

Zhu, X., Liu, Y., Zhou, C., Zhang, S., Chen, J.M., (2014). Novel and high-performance magnetic carbon composite prepared from waste hydrochar for dye removal, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(4), 969-977.

