

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL YOĞURT STARTER KÜLTÜRLERİNİN ELEKTROEĞİRME
YÖNTEMİYLE NANOENKAPSÜLASYONU VE YOĞURT ÜRETİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdullah DEMİRCİ
DANIŞMAN: Prof. Dr. Elvan OCAK
II. DANIŞMAN: Doç. Dr. Zafer CEYLAN

VAN-2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL YOĞURT STARTER KÜLTÜRLERİNİN ELEKTROEĞİRME
YÖNTEMİYLE NANOENKAPSÜLASYONU VE YOĞURT ÜRETİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdullah DEMİRCİ

VAN-2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Elvan OCAK danışmanlığında, Abdullah DEMİRCİ tarafından sunulan “**Geleneksel Yoğurt Starter Kültürlerinin Elektroeğirme Yöntemiyle Nanoenkapsülasyonu ve Yoğurt Üretimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince **28/12/2022** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile başarılı bulunmuş ve **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Elvan OCAK

İmza:

Üye: Prof. Dr. Seval ANDİÇ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Kamil EKİCİ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Filiz ALTAY

İmza:

Üye: Prof. Dr. Seval Sevgi KIRDAR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../2023

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Harun AKKUŞ

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Abdullah DEMİRCİ



ÖZET

GELENEKSEL YOĞURT STARTER KÜLTÜRLERİNİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE NANOENKAPSÜLASYONU VE YOĞURT ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DEMİRCİ, Abdullah

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elvan OCAK

II. Tez Danışman: Doç. Dr. Zafer CEYLAN

Ocak 2023, 127 sayfa

Yoğurt starter kültürü olan, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterileri; yoğurdun üretimi, depolanması ve tüketimi sırasındaki gastrointestinal sistem koşullarında canlılığını istenen seviyede koruyamamaktadır. Olumsuz çevre şartlarına karşı mikroorganizmaları korumak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Elektroegirme ile yapılan nanoenkapsülasyon da bu yöntemlerden birisidir.

Bu çalışmada, geleneksel yoğurtlardan elde edilmiş olan bakteri izolatlarının yoğurt kültürü olabilme potansiyelleri araştırıldıktan sonra nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. WPI (peynir altı suyu protein izolatu) ve salep glukomannanı elektroegirilerek bakteri izolatları nanoenkapsüle edilmiştir. Elektroegirme optimizasyonu; 11 kV yüksek güç uygulanmasıyla, 0.2 ml/h akış hızında ve iğne ile toplayıcı plaka arasındaki 12 cm uzaklık koşullarında gerçekleştirilmiştir. Nanoenkapsüle materyalin karakteristik özellikleri; SEM, TEM, FTIR ve TGA analizleri ile belirlenmiştir. Nanoenkapsüle starter kültürün fizikokimyasal özellikleri belirlendikten sonra kültürün üç farklı konsantrasyonu ile üretilen yoğurtlar; fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizi açısından değerlendirilmiştir.

Nanoenkapsüllenen, *Streptococcus thermophilus* %84.10 ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* %91.48 oranında canlılık göstermiştir. Nanoenkapsüle kültürün; düşük pH, simüle mide ve bağırsak sıvısı ortamlarındaki canlılık stabilitesini önemli derecede koruyabildiği saptanmıştır. Nanoenkapsülasyon, yoğurt örneklerinin reolojik ve duyu özelliklerini iyileştirmiştir.

Anahtar kelimeler: Elektroegirme, Glukomannan, Nanoenkapsülasyon, Nanotüp, Salep, Starter Kültür, WPI, Yoğurt.

ABSTRACT

NANOENCAPSULATION OF TRADITIONAL YOGURT STARTER CULTURES BY ELECTROSPINNING AND INVESTIGATION OF THE EFFECTS ON YOGURT PRODUCTION

DEMİRCİ, Abdullah
PhD. Thesis Food Engineering
Supervisor: Prof. Dr. Elvan OCAK
II. Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zafer CEYLAN
January 2023, 127 pages

Streptococcus thermophilus and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bacteria as a yogurt starter culture; yoghurt cannot maintain its vitality at the desired level in gastrointestinal system conditions during production, storage and consumption. Various methods have been developed to protect microorganisms against adverse environmental conditions. Electrospinning nanoencapsulation is one of these methods.

In this study, the nanoencapsulation of bacterial isolates obtained from traditional yoghurts was carried out after investigating their potential as yoghurt cultures. Bacterial isolates were nanoencapsulated by electrospinning WPI (Whey protein isolate) and salep glucomannan. Electrospinning optimization; It was carried out at a high power of 11 kV, at a flow rate of 0.2 ml/h and at a distance of 12 cm between the needle and the collector plate. The characteristics of the nanoencapsulated material; It was determined by SEM, TEM, FTIR and TGA analysis. After determining the physicochemical properties of the nanoencapsulated starter culture, yoghurts produced with three different concentrations of the culture; evaluated in terms of physicochemical, microbiological and sensory analyses.

Nanoencapsulated, *Streptococcus thermophilus* 84.10% and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* showed 91.48% viability. Nanoencapsulated culture; It has been determined that it can significantly maintain its viability stability in low pH, simulated gastric and intestinal fluid environments. Nanoencapsulation improved the rheological and sensory properties of yogurt samples.

Keywords: Electrospinning, Glucomannan, Nanoencapsulation, Nanotube, Salep, Starter Culture, WPI, Yogurt.



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasının yürütülmesinde her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Elvan OCAK ve Sayın Doç. Dr. Zafer CEYLAN'a teşekkür ederim. Ayrıca tez izleme komitesinde bulunarak, çalışmalarına katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Seval ANDİÇ ve Sayın Prof. Dr. Kamil EKİCİ'ye, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Sayın Şule ŞİRİN ile çalışmamın istatistik kısmında katkılarından dolayı Sayın Arş. Gör. Dr. Tahir YÜCEL'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda, desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Furkan ORHAN'a ve Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvar Yönetimine teşekkür ederim.

Ayrıca manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her daim yanımda olan değerli eşim Ümran DEMİRCİ'ye, kızım Sümeyye Vera, oğullarım Kerem Şefik ve Ömer Tahir DEMİRCİ'ye teşekkür ederim.

2023

Abdullah DEMİRCİ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	5
2.1. Probiyotik Mikroorganizmalar	5
2.1.1. Yoğurt starter kültürü	5
2.1.1.1. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	6
2.1.1.2. <i>Streptococcus thermophilus</i>	7
2.2. Kapsülasyon Teknolojisi	8
2.2.1. Kapsülasyon teknolojisinde kullanılan materyaller	9
2.2.1.1. Peyniraltı suyu protein izolatı (WPI).....	9
2.2.1.2. Salep	10
2.2.2. Elektroegirme yöntemiyle nanoenkapsülasyon.....	12
2.2.2.1. Mikroorganizmaların nanoenkapsülasyonu.....	13
2.2.2.2. Vitamin, biyopolimerler, çeşitli yağlar, antioksidan ve bitki ekstraktlarının nanoenkapsülasyonu.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Kültürün temini	25
3.1.2. Salep temini	25
3.1.3. Peyniraltı suyu tozu (WPI) temini.....	25
3.1.4. Elektroegirme cihazı.....	26
3.1.5. Yoğurt yapımında kullanılan sütün temini	27
3.2. Yöntem	27

3.2.1. İzolatların yoğurt starter kültür olarak kullanım potansiyelini belirleyen analizler.....	27
3.2.1.1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi	27
3.2.1.2. İzolatların pH değişimi ve laktik asit üretim potansiyeli	28
3.2.1.3. İzolatların proteolitik aktivite potansiyeli	29
3.2.1.4. Seçilen kültür kombinasyonlarıyla yapılan yoğurtların aroma profilinin belirlenmesi	29
3.2.2. Salep çözeltisinin hazırlanması	30
3.2.3. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin hazırlanması ve fizikokimyasal özellikleri	31
3.2.3.1. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin elektriksel iletkenliği ve pH değeri....	31
3.2.3.2. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin viskozitesi	31
3.2.3.3. Elektroeğirme uygulaması ve optimum koşulların sağlanması.....	31
3.2.4. Nanoenkapsüle starter kültürün fizikokimyasal özellikleri.....	32
3.2.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	32
3.2.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi.....	32
3.2.4.4. Termo gravimetrik analizler (TGA)	32
3.2.4.5. Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilitesi	33
3.2.4.6. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi.....	33
3.2.4.7. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi.....	33
3.2.4.8. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısı ortamındaki canlılık stabilitesi.....	34
3.2.4.9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi	34
3.2.5. Nanoenkapsüle starter kültürden yoğurt üretimi	34
3.2.5.1. Üretilen yoğurtların fizikokimyasal özellikleri	37
3.2.5.1.1. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri	37
3.2.5.1.2. Yoğurt örneklerinin pH ve asitlik (%Laktik asit) değeri.....	37
3.2.5.1.3. Yoğurt örneklerinde su tutma kapasitesi	38
3.2.5.1.4. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması tayini.....	38
3.2.5.1.5. Yoğurt örneklerinin viskozite tayini.....	38

3.2.5.1.6. Yoğurt örneklerinin tekstür profil analizi (TPA).....	39
3.2.5.1.7. Yoğurt örneklerinin uçucu aroma profilinin belirlenmesi	39
3.2.5.2. Üretilen yoğurtların mikrobiyolojik analizleri	40
3.2.5.3. Üretilen yoğurtların duyuusal değerlendirme	40
3.2.6. İstatistiksel değerlendirme.....	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. İzolatların Yoğurt Starter Kültür Olabilme Potansiyelini Belirleyen Analizler ..	41
4.1.1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi	41
4.1.2. İzolatların pH değişimi ve %Laktik asit üretim potansiyeli	43
4.1.3. İzolatların proteolitik aktivite potansiyeli	46
4.1.4. Seçilen izolat kombinasyonlarıyla yapılan yoğurtların aroma profilinin belirlenmesi.....	48
4.2. Salebin Çözünürlük Veriminin Hesaplanması	49
4.3. Nanoenkapsülasyon Çözeltisinin Fizikokimyasal Özellikleri.....	50
4.4. Nanoenkapsüle Starter Kültürün Fizikokimyasal Özellikleri	52
4.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	52
4.4.2. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi.....	57
4.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi.....	60
4.4.4. Termo gravimetrik analizi (TGA)	62
4.4.5. Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilitesi.....	63
4.4.6. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi ..	64
4.4.7. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi ..	66
4.4.8. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısı ortamındaki canlılık stabilitesi	67
4.4.9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi.....	69
4.5. Nanoenkapsüle Starter Kültürden Üretilen Yoğurtların İnkübasyon Süresi	71
4.5.1. Üretilen yoğurtların fizikokimyasal özellikleri	73
4.5.1.1. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri	73
4.5.1.2. Yoğurt örneklerinin pH ve asitlik (%Laktik asit) değeri.....	74
4.5.1.3. Yoğurt örneklerinde su tutma kapasitesi	78
4.5.1.4. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması tayini.....	80
4.5.1.6. Yoğurt örneklerinin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları	84

4.5.1.7. Yoğurt örneklerinin uçucu aroma profilinin belirlenmesi.....	91
4.5.2. Üretilen yoğurtların mikrobiyolojik analiz sonuçları	98
4.5.3. Üretilen yoğurtların duysal değerlendirilmesi.....	103
5. SONUÇ	107
KAYNAKLAR.....	117
ÖZ GEÇMİŞ.....	127



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3. 1.WPI'nın duyusal, kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik analiz sonuçları...	26
Çizelge 4. 1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi.....	41
Çizelge 4. 2. İzolatların inkübasyon süresince pH değişimi.....	43
Çizelge 4. 3. İzolatların inkübasyon süresince %Laktik asit üretimi.....	44
Çizelge 4. 4. Yöresel ürünlerin pH ve %Laktik asit değerleri.....	45
Çizelge 4. 5. İzolatların proteolitik aktivite potansiyel değerleri.....	47
Çizelge 4. 6. İzolatların iyodometrik yöntemle asetaldehit üretim değerleri (ppm).....	48
Çizelge 4. 7. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin fizikokimyasal özellikleri.....	50
Çizelge 4. 8. Nanoenkapsüle materyalin TGA analiz sonucu.....	62
Çizelge 4. 9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi.....	64
Çizelge 4. 10. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi.....	66
Çizelge 4. 11. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısındaki canlılık stabilitesi.....	68
Çizelge 4. 12. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi.....	70
Çizelge 4. 13. Nanoenkapsüle starterin farklı oranlarıyla yoğurt üretimi ve inkübasyon süreleri	72
Çizelge 4. 14. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri.....	73
Çizelge 4. 15. Yoğurt örneklerinin pH değerleri.....	74
Çizelge 4. 16. Yoğurt örneklerinin asitlik (%Laktik asit) değerleri.....	76
Çizelge 4. 17. Yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi.....	78
Çizelge 4. 18. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması değerleri.....	80

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4. 19. Yoğurt örneklerinin viskozite analiz sonuçları.....	83
Çizelge 4. 20. Yoğurt örneklerinin TPA analiz sonuçları.....	85
Çizelge 4. 21. Üretilen yoğurtların aroma profil sonuçları.....	94
Çizelge 4. 22. Yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	99
Çizelge 4. 23. Yoğurt örneklerinin duyuşal olarak değeriendirme sonuçları.....	105



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Elektroegirme cihazının bölümleri.....	12
Şekil 3. 1. Yoğurt üretim diyagramı.....	36
Şekil 4. 1. İzolatların, farklı zaman aralıklarında spesifik gelişim oranlarındaki değişim.....	42
Şekil 4.2. İzolatların farklı sürelerde inkübasyon sırasındaki pH değişimi.....	43
Şekil 4.3. İzolatların, inkübasyon boyunca %Laktik asit üretim değerlerindeki değişim.....	44
Şekil 4.4. Tirozin standart grafiği.....	46
Şekil 4.5. İzolatların proteolitik aktivite düzeyleri.....	47
Şekil 4.6. İzolatların iyodometrik yöntemle asetaldehit üretimi.....	49
Şekil 4.7. Nanoenkapsüle materyalin 2 µm ve 400 nm'deki SEM analiz görüntüsü.....	53
Şekil 4.8. Nanoenkapsüle materyalin çap boyut ölçümünün SEM analiz görüntüsü.....	54
Şekil 4.9. Nanoenkapsüle materyaldeki yapıların boyut ölçümü SEM analiz görüntüsü.....	55
Şekil 4.10. Nanoenkapsüle materyalin 100 nm'deki SEM analiz görüntüleri.....	56
Şekil 4.11. Nanoenkapsüle materyalin 200 nm ve 50 nm'deki TEM analiz görüntüsü.....	58
Şekil 4.12. Salebin, WPI ve nanomateryalin FTIR ölçüm grafiği.....	60
Şekil 4.13. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi.....	65
Şekil 4.14. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi.....	67

Şekil	Sayfa
Şekil 4.15. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısındaki canlılık stabilitesi.....	69
Şekil 4.16. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi.....	71
Şekil 4.17. Yoğurt örneklerinin Kurumadde ve Kül değerleri.....	74
Şekil 4.18. Yoğurt örneklerinin pH değişim değerleri.....	75
Şekil 4.19. Yoğurt örneklerinin laktik asit (%) üretim değerleri.....	77
Şekil 4.20. Yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi.....	79
Şekil 4.21. Yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerleri.....	81
Şekil 4.22. Yoğurt örneklerinin viskozite analiz sonuçları.....	83
Şekil 4.23. Yoğurt örneklerinin sertlik analiz sonucu.....	86
Şekil 4.24. Yoğurt örneklerinin yüzey yapışkanlığı analiz sonucu.....	87
Şekil 4.25. Yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık analiz sonucu.....	88
Şekil 4.26. Yoğurt örneklerinin sakızimsılık analiz sonucu.....	89
Şekil 4.27. Yoğurt örneklerinin esneklik analiz sonucu.....	90
Şekil 4.28. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca Str. thermophilus bakteri sayısının değişimi.....	100
Şekil 4.29. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca Lb. bulgaricus bakteri sayısının değişimi.....	101
Şekil 4.30. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayısının (TAMBS) değişimi.....	101

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

Ab

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*

As

Streptococcus thermophilus

cm

Santimetre

°C

Santigrat derece

dk

Dakika

g

Gram

h

Saat

Kg

Kilogram

kV

Kilovolt

M

Molarite

mA

Miliamper

mm

Milimetre

N

Normalite

nm

Nanometre

µm

Mikrometre

µL

Mikrolitre

>

Büyüktür

≥

Büyüktür ve eşittir

<

Küçüktür

Kısaltmalar**Açıklama****AR-GE**

Araştırma geliştirme

A.Ş.

Anonim şirketi

CFU/g

Bir gramdaki koloni oluşturabilen mikroorganizma sayısı

ISAPP

Probiyotikler ve prebiyotikler için uluslararası bilimsel dernek

Kob/ml

Bir mililitredeki koloni oluşturabilen mikroorganizma sayısı

LAB

Laktik asit bakterisi

LTD

Limited şirket

MBS

Mevzuat bilgi sistemi

OD

Optik dansite/yoğunluk

Ort.

Ortalama

spp

Türleri

TGK

Türk gıda kodeksi

TSE

Türk standartlar enstitüsü

TÜİK

Türkiye istatistik kurumu

UHT

Ultra yüksek sıcaklık

USK

Ulusal süt konseyi

vb

Ve benzeri

WPC

Whey protein konsantresi

WPI

Whey protein izolatu

1.GİRİŞ

Son zamanlarda, teknoloji ve bilim dünyasındaki gelişmelerin toplumsal iletişimle yaygınlaşmasıyla bilinçli tüketicilerin sayısı artmaktadır. Bilinçli tüketici, sağlıklı ve dengeli beslenmeyi arzu etmektedir. Dengeli beslenme; kişinin yaş, cinsiyet ve yaptığı işe göre günlük alması gereken enerji ve besin öğeleri olarak tanımlanmaktadır. Tükettiğimiz gıdalar ile enerji ve besin öğeleri vücudumuza alınmaktadır (Karakayacı ve Koçyiğit, 2018). Süt ve süt ürünleri; bileşiminde bulunan değerli proteinler, mineral maddeler, esansiyel yağ asitleri, amino asitler, suda çözünebilen vitaminler ve biyoaktif bileşenler bakımından zengin olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, süt ve süt ürünleri bireylerin dengeli ve yeterli beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir (Yalçın ve Argun, 2017; Hökelekli, 2021).

İçeriğiyle bu denli değerli ve zengin olan süt, biz insanoğlu ve mikroorganizmalar için de önemli bir besin kaynağıdır. Ancak sütü sağımdan sonra aynı değerler çerçevesinde korumak neredeyse imkânsızdır. İnsanoğlu var olduğundan beri kendisi için besin olabilecek bütün gıdaları tecrübeye dayalı yöntemlerle muhafaza etmeye çalışmıştır. Sütün; ateş bulunmadan önce nasıl tüketildiğine dair bir bilgiye ulaşılamazken, tesadüfi olarak 1.7 milyon yıl önce ateşin bulunması (Britannica, 2022) ve kullanılması ile sütün pişirilerek ve geleneksel yöntemlerle farklı ürünlere dönüştürülerek kullanıldığı ifade edilmektedir (Demirci ve Ocak, 2020). Son zamanlarda nüfusun artmasıyla gıdaya olan ihtiyaç da artmıştır. Sanayileşme ile gelişen teknolojiye, geleneksel yöntemlerle uzun süre korunmaya çalışılan gıdalar endüstriyel boyuta taşınmıştır. Endüstriyel olarak süte, farklı kombinasyonlarda ısıtılarak uygulanarak içme sütü şeklinde tüketilebilmektedir. Diğer taraftan kültürden kültüre ve bölgeden bölgeye değişmekle birlikte süttten birçok farklı süt ürünü üretilebilmektedir. Bunlardan en çok bilinen çeşitleri; yoğurt, peynir (çeşitli beyaz ve kaşar peynirleri), tereyağı, krema, kefir, ayran vb. ürünlerdir (Metin, 2005; Ender ve ark., 2006).

Yoğurt; inek, koyun, keçi ve manda sütü veya karışımlarının pastörize edilmesi veya pastörize sütün, gerektiğinde süt tozu ilavesiyle homojenize edilip veya edilmeden *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerinin laktik asit fermentasyonu ile meydana gelen fermente bir süt ürünüdür (USK, 2021). En çok tüketilen süt ürünlerinden biri olan yoğurt hem evlerde hem de ticari olarak

üretilebilmektedir. Süt ürünlerinin endüstriyel boyuta taşınması ile birlikte bir takım problemler de ortaya çıkmıştır. Ürünlerin sağlık yönünden istenen kaliteyi sağlayamaması ve bileşim olarak standart ürün üretilmemesi en önemli sorunları oluşturmaktadır. Bu yüzden her süt ürününde olması gereken standart değerleri belirleyen kodeksler oluşturulmuştur (MBS, 1984).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre yoğurt "Fermentasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*'un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente süt ürünü" olarak tanımlanmaktadır. Aynı tebliğde yoğurtla ilgili; süt yağı oranı %0.5-3.8 (Yağsız yoğurt süt yağı %0.5, Yarım yağlı yoğurt %2.0> süt yağı $\geq$ %1.5 ve Tam yağlı yoğurt süt yağı $\geq$ %3.8), süt proteininin en az %3.0, Titrasyon asitliği %Laktik asit cinsinden 0.6-1.5, toplam spesifik mikroorganizma sayısının 10^7 kob/ml gibi olması gereken standart değerleri belirtilmiştir (TGK, 2009). Kodekslere göre standart ürün oluşturmak için starter kültür kullanmak gerekmektedir.

Starter kültür; kontrollü bir şekilde üretilmek istenen hammaddeye gerektiği kadar inoküle edilerek standart ürün oluşturmak için kullanılan mikroorganizma topluluğu şeklinde tanımlanmaktadır. Kültür; aynı tür mikroorganizmadan olabileceği gibi birkaç farklı tür veya maya-küfün de dahil olduğu karışık kültürler olabilmektedir (Metin, 2001; Çelik ve ark., 2016).

2017 tarihinde IFCN (International Farm Comparison Network), Dünya süt ve süt ürünleri piyasa tahminleri raporuna göre 2015'te 830 milyon ton olan süt ve ürünleri üretimi 2025'te 1.038 milyar tona ulaşabileceği ifade edilmektedir. Bu tahmin; Dünya nüfusunun %12 artması, sağılan hayvan sayısı, ortalama süt verimi ve kişi başı süt tüketimi gibi parametrelerdeki değişkenlikler göz önüne alınarak yapılmıştır. IFCN tahminleri 10'ar yıllık aralıklarla uzun dönemler için yapılmaktadır. TÜİK 2021 süt ve süt ürünleri üretim raporuna göre yıllık 2019'da 22.9 milyon ton çiğ süt üretimi gerçekleşmiştir. Bu sütlerin 1.13 milyon tonu yoğurt üretiminde kullanılmıştır. Her yıl tahmini olarak üretim ve tüketim miktarları %3-4 arasında artmaktadır (TÜİK, 2021). Endüstriyel yoğurt üretiminde %2 starter kültür kullanıldığı varsayıldığında toplamda 22.6 ton kültüre ihtiyaç duyulmaktadır.

Ülkemizin neredeyse tamamen dışa bağımlı olduğu yoğurt starter kültür üretiminde amacımız; yerel kaynaklardan elde edilmiş *Lactobacillus delbrueckii* spp

bulgaricus ile *Streptococcus thermophilus* bakterilerinden yoğurt kültürü olabilme potansiyeli taşıyan izolatlarının, elektroğirme yöntemiyle nanoenkapsüle edilerek yerel yoğurt starter kültürü oluşturabilmektedir.





2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Probiyotik Mikroorganizmalar

ISAPP (Uluslararası Bilimsel Probiyotik ve Prebiyotik Birliği) (2013), tarafından probiyotik “Yeterli miktarda alındığında konakçının sağlığı olumlu etkileri olan, yaşayan organizmalar” şeklinde tanımlanmıştır (İmamli ve Fırat, 2018). Probiyotikler; canlı sağlığına fayda sağlarken, kullanıldığı ürünlere de duyuşal ve yapısal özellikler kazandırmaktadır. Ayrıca sahip olduğı lipolitik, proteolitik ve glikozidik aktiviteleri ile sindirime yardımcı olurken, ürettikleri ekzopolisakkarit ve bakteriyosin gibi ikincil metabolitler ile de ürünlerin raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir (Yangılar, 2015; Taşdemir, 2017)

Mikroorganizmaların probiyotik olabilmesi için bazı özellikleri taşıması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların; sindirim sisteminin asidik ortamında (düşük pH) canlı kalabilme, safra tuzlarına ve antibiyotiklere karşı dirençli, düşük oksijen seviyelerinde yaşayabilme, patojenlere karşı baskın ve bağırsak duvarına tutunabilme gibi yeteneklere sahip olması gerekmektedir. Bu özellikleri genellikle laktik asit bakterilerinin (LAB) sağladığı bildirilmiştir (Yurdakök, 2015; Taşdemir 2017).

LAB’lerinden probiyotik özellik gösteren bakteri cinsleri; *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., ve *Pediococcus* spp. olarak bilinmektedir (Koçak ve ark., 2016). Bu bakterilerin birçok farklı kombinasyonlarda fermente ürünlerin oluşturulmasında starter kültür olarak kullanılmaktadır. Yoğurt starter kültürü olarak; *Lactobacillus delbrueckii* spp *bulgaricus* ile *Streptococcus thermophilus* bakterileri kullanılmaktadır (Metin, 2001; Çelik ve ark., 2016; Tepe, 2021).

2.1.1. Yoğurt starter kültürü

Starter kültür; ürünün duyuşal, tekstürel ve reolojik özellikleri açısından standart şekilde, kontrollü ve güvenilir fermentasyon sağlayan mikroorganizma kombinasyonları olarak tanımlanmaktadır (Çelik, 2020). Dünyada süt ürünlerinde kullanılan ilk starter kültür, Danimarka’da Chr. Hansen firması tarafından üretilmiştir. Chr. Hansen firması,

zaman içerisinde yatırım yapmaya ve gelişmeye devam etmiş ve sonuç olarak, günümüzde dünyanın en büyük starter kültür üretici firması haline gelmiştir. Diğer taraftan İtalya, Fransa, ABD, Hollanda ve Finlandiya gibi ülkeler de değişik markalarda starter kültür üretimi yapmaktadır (Yılmaz, 2006).

Ülkemizde starter kültür çalışmaları ilk defa 1970-1980'li yıllarda başlamış olup yerel starter kültür ile üretilen yoğurtlar 2012 yılında Atatürk Orman Çiftliği (AOÇ) tarafından piyasaya sürülmüştür (Tabak, 2018). Uzun süre AR-GE çalışmaları sonucunda Konya'da kurulan Torku A.Ş. firması da kendi yerel yoğurt starter kültürünü üretmeyi başarmış ve piyasaya yerel kültürle üretilen yoğurtları arz etmektedir (Torku, 2018). Ancak her iki firma/şirket de ürettikleri yerel kültürü ticari boyuta dönüştürememiştir. Yoğurt starter bakterilerinin bazı karakteristik özellikleri aşağıda verilmiştir.

2.1.1.1. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*'un genel karakteristik özellikleri;

- ✓ 0.5-0.8'den 2-9 µm'ye kadar değişebilen uzunlukta, yuvarlak uçlu çubuk şeklindedir.
- ✓ Tekli, ikili veya zincir formda bulunabilen çubuk şeklinde, gram pozitif, hareketsizdir ve spor oluşturmaz.
- ✓ Homofermentatiftir, son ürün olarak D (-) laktik asit üretir.
- ✓ Katalaz negatiftir.
- ✓ Sitokrom bulundurmaz.
- ✓ Anaerobiktir.
- ✓ Gelişme sıcaklığı minimum 22°C, maksimum ise 50-55°C ve optimum 45°C'dir.
- ✓ Optimum gelişme pH'sı 5.2-5.5 arasındadır.
- ✓ Laktoz, früktoz ve glikozu fermente eder. Arginini kullanamaz (Yılmaz ve Temiz, 2003; Özer, 2006).

Lb. bulgaricus'un bazı suşları ekzopolisakkarit sentezleme yeteneğine sahiptir. Gelişimleri için niasin ve pantotenik asite gereksinim göstermektedir (Hammes ve Vogel, 1995). Proteolitik aktivitesi *Str. thermophilus*'a göre daha yüksektir ve bu bakterinin ihtiyaç duyduğu esansiyel amino asitleri üretme yeteneğine sahiptir (Rajagopal ve Sandine, 1990). Laktobasillerin proteolitik sistemleri, farklı hücresel lokasyona sahip

proteinaz ve peptidaz enzimlerini içermektedir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un proteinazları hücre duvarında bulunur, sıcaklık ve büyüme evresine göre düzenlenir. Büyüme sırasında ana aminoasit kaynağı kazeindir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un yüksek proteolitik aktivitesi yoğurt için önemlidir. Çünkü bu bakteri tarafından üretilen peptidler *Str. thermophilus*'un gelişmesi için elzemdir. Proteinaz aktivitesi yüksek olmasına karşın peptidaz aktivitesi sınırlıdır (Robinson ve ak., 2002).

2.1.1.2. *Streptococcus thermophilus*

Str. thermophilus'un genel karakteristikleri;

- ✓ Gram pozitifdir.
- ✓ 0.7-0.9 µm çapında genellikle diplokok şeklinde olup, asitliği artmış kültürlerde zincirler halinde bulunur.
- ✓ Homofermentatiftir, son ürün olarak L (+) laktik asit oluşturur.
- ✓ Fakültatif anaerobiktir.
- ✓ Katalaz negatiftir.
- ✓ Sitokrom bulundurmaz.
- ✓ Gelişme sıcaklığı minimum 20-25°C ve maksimum 50-52°C ve optimum 40-45°C'dir. 15°C'de gelişme göstermezken 45°C'de gelişebilmektedir.
- ✓ pH 9.6'da ve %0.1 metilen mavisi çözeltisinde gelişme göstermez.
- ✓ %2 tuzlu ortamda geliştiği halde daha yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşayamaz.
- ✓ Arginin aminoasitinden amonyak oluşturmaz.
- ✓ Rafinoz, ksiloz ve arabinozdan asit üretmezken; laktoz, sukroz, glikoz ve früktozdan asit üretebilmektedir.
- ✓ Diğer laktik bakterilere oranla antibiyotiklere oldukça duyarlıdır.
- ✓ Optimum pH'sı 5.5'tir. Son gelişme pH'sı glikoz besi ortamında 4.0-4.5'tir (Kılıç 2010).

Bazı suşları ekzopolisakkarit (EPS) üretir. Genellikle meyveli ve aromalı yoğurtlar, ayran ve diğer süt içeren içecekler hazırlanırken EPS oluşturan *Str. thermophilus* suşları kullanılmaktadır. EPS'ler suda çözünürler. Bu sebeple meyveli ve

aromalı yoğurtlarda viskoz yapı ve ayranda daha fazla akıcı yapı sağlanması amacıyla kültür bakterilerinin belli oranda EPS üreten suşları tercih edilmektedir (Kılıç, 2010).

Gelişmeleri için B vitaminleri ve bazı aminoasitlere gereksinim gösterir. Genelde proteolitik ve lipolitik aktivitesi düşüktür. B1, B2, B12, nikotinamid, pridoksal ve folik asit gibi karmaşık B vitaminleri gelişmeleri için çok önemli ve gereklidir. İhtiyaç duyduğu aminoasitler ise; glutamik asit, histidin, sistein, metiyonin, valin, lösin, izolösin, triptofan, arginin ve tirozindir (Robinson ve ark., 2002; Kılıç, 2010).

Sütte doğal olarak bulunan serbest aminoasitler gelişimleri için yeterli değildir. Gerekli olan serbest aminoasitler, ısıtma işlemi sırasında ya da *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un proteolitik aktivitesi sonucu aminoasitler tarafından sağlanmaktadır (Özer, 2006; Erkuş, 2007; Muhammadi ve ark., 2012).

Son zamanlarda bazı araştırmacılar, yoğurt bakterilerinin probiyotik özelliğe sahip olmadığını, dolayısıyla yoğurdun da probiyotik bir ürün olup olmadığı konusunda tartışmaktadırlar. Sebep olarak, yoğurt bakterilerinin mide ve ince bağırsak koşullarına çok dayanıklı olmaması gösterilmektedir (Vodnar ve ark., 2010). Ancak bazı araştırmacılar da yoğurt bakterilerinin; bağırsak patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisi, kolesterol seviyesinin dengelenmesinde ve iyi bir laktoz parçalayıcı olması nedeniyle laktoz intoleransı olan kişiler için sağlığa faydalı yönüyle probiyotik olduğunu savunmaktadır (Krasaekoopt ve ark., 2003; Guarner ve ark., 2005).

Bu tartışmalar doğrultusunda; laktik asit bakterilerinin canlılığını koruyarak probiyotik özelliklerinden faydalanmak için yeni teknolojiler geliştirilmesi önemli olmaktadır. Gıdanın işlenmesi ve depolanması sırasında; hammaddeye uygulanan ön işlemler, değişen ortam şartları ve oluşan ara ürünlere karşı aktif materyalin stabilitesini korumada en etkili yöntemlerden birisi kapsülasyon teknolojisidir (Hökelekli, 2021).

2.2. Kapsülasyon Teknolojisi

Kapsülasyon; bir veya birkaç materyal ile bir veya birkaç biyoaktif madde/materyali kaplamak veya içerisine hapsedmek olarak tanımlanmaktadır (Pedero ve ark., 2016).

Kapsülasyon işlemi; emülsiyon, ekstrüzyon, sprey kurutma, koaservasyon, dondurarak kurutma yöntemi ve elektriksel güç uygulayarak enkapsülasyon yöntemleri şeklinde uygulanmaktadır. Enkapsülasyon yöntemi ile biyoaktif materyaller;

nanoenkapsülasyon (nm), mikrokapsülasyon (μm) ve daha büyük ölçekli (mm) kapsül şeklinde kaplanmaktadır. Kapsülasyon yönteminde kullanılan maddeler; sağlık açısından güvenilir, ucuz, çözünürlüğü yüksek olmalı, toksik olmamalı, kaplanan biyoaktif materyali en üst seviyede istenen olumsuzluklardan korumalı ve biyoaktif materyalin istenen ortamda gerekli salınımı için uygun olmalıdır. Enkapsülasyon işlemi, probiyotik mikroorganizmaları olumsuz çevre şartlarına ve özellikle mide asidi ve safra sıvısına karşı koruyarak, bu ortamlarda canlılık stabiliteelerini korumalarına olanak tanımakta ve onlardan daha fazla yararlanma imkânı sağlamaktadır. Bu yöntemlerin hangisinin hangi mikroorganizma ve hangi kaplama materyalleriyle kullanılacağı tam olarak bilinmediğinden, çok farklı materyaller ile değişik mikroorganizmalar üzerine çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir (Hökelekli, 2021).

2.2.1. Kapsülasyon teknolojisinde kullanılan materyaller

Kapsülasyon materyali olarak; sentetik polimerler (polivinil alkol, polilaktik asit, polietilen glikol, poliakrilonitril, polikaprolaton vb.), protein bazlı olanlar (kazein, zein, jelatin, sodyum kazeinat, gluten kazeinleri, soya proteini, peyniraltı suyu konsantresi, peyniraltı suyu proteini izolatu ve ipek proteini (fibroin) vb.), polisakkarit bazlı olanlar (aljinatlar, kitosan, selüloz derivantları, pektin, modifiye nişastalar, maltodekstrin, siklodesktrin, nişasta partikülleri, keçiyoynuzu zamkı, guar gam, ksantam gam, karragenan gam vb.) ve yağ ile mumsu yapıda olanlar (hidrojenize edilmiş sebze-meyve yağları, lesitin, orta zincirli trigliseritler, bal mumu türevleri, gliserol türevleri vb.) kullanılmaktadır (Huq ve ark., 2013; Tahir ve ark., 2021). Her geçen gün yeni materyaller değişik yöntemlerle kapsülasyon teknolojisinde kullanılmaya devam etmektedir.

Burada sadece çalışmamızda kullandığımız kapsülasyon materyallerinin literatür taramaları aktarılacaktır.

2.2.1.1. Peyniraltı suyu protein izolatu (WPI)

Peyniraltı suyu proteinlerinin; düşük viskoziteli çözelti oluşturma, kolay çözünebilme ve film oluşturabilme gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda bileşenlerinin, ilaçların ve mikroorganizmaların kapsülasyonunda uzun süredir kullanıldığı bilinmektedir (Suhag ve ark., 2020).

Çabuk (2014), probiyotik *Lactobacillus acidophilus* NRRL-B 4495 bakterisini peynir altı suyu proteini ve pullulan (PAS-pullulan) ile mikrokapsüle etmiştir. Simüle edilen mide çözeltisi içerisinde 3 h inkübasyon sonucunda PAS-pullulan duvar matrisi %87.18 oranında bakteri canlılığı gösterir iken serbest hücreler için bu oran %73.19 olarak hesaplanmıştır. Pullulan varlığı ile mikrokapsüllerin salınım özellikleri de değişim göstermiştir. PAS-pullulan matrisine kapsüllenen bakterilerin uygun ortam koşulları altında çoğalmasının mümkün olduğu sonucuna varılmıştır.

Chen ve ark. (2017), peyniraltı suyu proteini ve aljinat ile *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'u mikroenkapsüle etmişlerdir. Enkapsüle edilen probiyotik mikroorganizma üzerine düşük pH, simüle mide sıvısı ve depolama süresince canlılık testleri yapılmıştır. *L. bulgaricus*, simüle edilen mide sıvısında pH:2.0 ve pH:2.5'te bir dk sonra canlılığını kaybederken enkapsüle mikroorganizmanın pH:2.5'te 2 h'lik inkübasyonun sonunda bile canlılığında bir azalma olmamıştır. Ancak %1-2 safra tuzu ve pH:2.0'de 1 h'lik inkübasyon sonrası 1.2 log CFU/g azalma görülmüştür. 4°C'de aynı koşullarda depolama sonrasında ise serbest hücre sadece 3 log CFU/g kalırken, enkapsüle *L. bulgaricus* 8 log CFU/g olarak bulunmuştur. Sonuç olarak bu yöntemin probiyotik mikroorganizmayı korumada uygun bir yöntem olduğu ifade edilmiştir.

Yoğurt bakterileri beraber de kapsüle edilmişlerdir. Vadnar ve ark. (2010), mikrokapsülasyon teknolojisini kullanarak; *Lactobacillus delbrueckii* spp *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerini sodyum aljinat ve kitosan materyalleri ile ayrı ayrı kaplamışlardır. Simüle mide sıvısı ortamında (pH değeri 1.5 olan ortamda) 120 dk bekletmeyle canlılıklarını 5 log kadar kaybetmişlerdir. Çalışmada; %2 sodyum aljinat ile yapılan kaplamada desimal azal süresi 71.38 dk iken %2 kitosan materyali ile yapılan kapsüllemeye 54.97 dk olarak bulunmuştur. Serbest haldeki bakteriler için ise desimal süresi 23.12 dk olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak; sodyum aljinat ile kapsüllemenin yoğurt bakterilerini, kitosan ile kaplananlara göre daha iyi koruduğu ifade edilmiştir.

2.2.1.2. Salep

Salep, dünya üzerinde 20-25 bin farklı türü olduğu bildirilen *Orchidaceae* familyasına ait yabani orkidelerin yumrularından elde edilmektedir. Orkideler yeryüzündeki en zengin bitki familyası olup bütün çiçekli bitkilerin yaklaşık %7 kadarını

oluşturmaktadır. Türkiye’de 24 cins ve 154 tür yabancı orkide bulunduğu ve 5 cinse ait 28 türün endemik olduğu belirtilmektedir (Turkmen, 2021; Aytar ve Kömpe, 2021).

Türkiye’nin hemen her bölgesinde salep toplanmaktadır. Ancak bazı bölgeler daha fazla öne çıkmaktadır. En çok toplandığı yerler Ege bölgesinin özellikle kıyı kesimi, İzmir, Aydın ve Muğla illeri, Akdeniz Bölgesinde Antalya çevresi, Mersin, Adana ve Kahraman Maraş, Batı Karadeniz Bölgesinde Kastamonu civarı, İç Anadolu’da Yozgat, Akdağmadeni, Doğu Anadolu Bölgesinde Ardahan ve Van çevresi olarak bilinmektedir (Anonim, 2022). Türkiye’de salep üretiminin bölgelere göre %dağılımı; Ege Bölgesi (%50), Akdeniz Bölgesi (%15), Karadeniz Bölgesi (%15), İç Anadolu Bölgesi (%10), Doğu Anadolu Bölgesi (%5), Güneydoğu Anadolu Bölgesi (%5) şeklinde olduğu bildirilmiştir (Çıg, 2012; Anonim, 2018).

Salep tozu, her yıl toplanan en az 10-20 milyon adet yabancı orkidenin yumrularından elde edilmektedir. 1 kg salep tozu elde edebilmek için yaklaşık 0.25-1.00 g ağırlığında 1000-4000 kadar yumruya ihtiyaç duyulmaktadır (Turkmen, 2021; Ayter ve Kömpe, 2021).

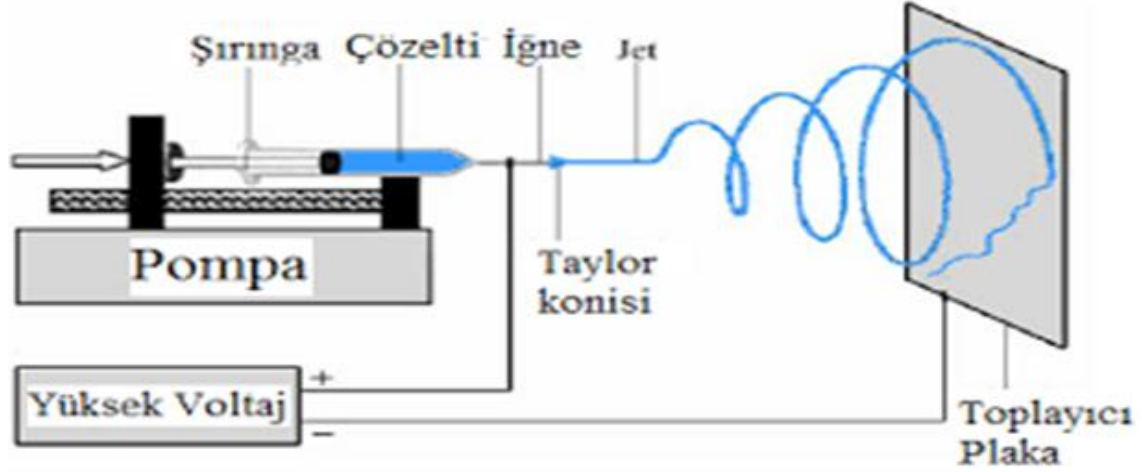
Türkiye’de iklim koşullarına göre değişiklik göstermekle birlikte 300 ton civarı salep orkidesinin doğadan toplandığı düşünülmektedir. 1 kg yaş salepten yaklaşık 0,20 kg kuru salep elde edildiğine göre, Türkiye'nin yıllık ortalama 60 ton salep ihtiyacı olduğunu bilgisine ulaşılmaktadır. Orman Genel Müdürlüğü (2018), Türkiye'nin salep üretim, tüketim ve talep istatistik raporuna göre 2026 yılında salep üretim miktarı 95 ton olup, talep 100 ton olabileceği rapor edilmiştir (Anonim, 2018).

Yapılan çalışmalarda salep tozunun bileşimi genel olarak; %7-61 glukomannan, %1-36 nişasta, %0.5-1 azotlu madde ve %0.2-6 külden oluştuğu ifade edilmiştir. Glukomannan; salep ve konjak gibi bitkilerde bulunan, suda çözünebilen doğal lif kaynağı olan bir polisakkarittir. Sindirilemeyen polisakkaritler grubuna dahildir. Glukomannan polisakkarit bileşimi; farklı bağlanma şekilleriyle mannoz, glikoz ve galaktozdan oluştuğu bildirilmiştir (Türkmen, 2019).

Gelişen teknoloji ile probiyotik mikroorganizmalar farklı materyallerle ve farklı yöntemlerle nanoenkapsüllenebilmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların kaplanmasında, Elektroegirme cihazı kullanılarak mikroenkapsülasyon ve nanoenkapsülasyon en çok kullanılan yöntemleri oluşturmaktadır. Bu yöntemler ile mikroorganizma haricinde gıda katkı maddeleri, ilaçlar ve fonksiyonel özelliğe sahip olan

biyoaktif bileşenler de kapsüllenebilmektedir. Nanoenkapsülleme; nanolif, nanopartikül, nanokristal, nanolipozom ve nanoemülsiyon yöntemi şeklinde uygulanmaktadır.

2.2.2. Elektroğirme yöntemiyle nanoenkapsülasyon



Şekil 2.1. Elektroğirme cihazının bölümleri.

Elektroğirme, dilimize İngilizce electrospinning kelimesinden geçmiştir. Kısaca elektro+iplik anlamına gelmektedir. Literatürde elektrospin, elektrospun gibi terimlerle de ifade edilmektedir. Cihaz; yüksek güç kaynağı (6-40 kV), zaman akışlı enjeksiyon pompası ve toplayıcı plakadan (demir yada bakır) oluşmaktadır. Elektroğirme cihazının çalışma mantığı; polimer çözeltisi kuvvetli elektrik alana maruz kaldığında, sıvı çözeltinin molekülleri artı ve eksi yük ile yüklenerek tıpkı mıknatısın aynı kutuplarının birbirini ittiği gibi sıvı çözeltinin molekülleri de birbirlerini itmektir. Bu itme kuvveti polimer çözeltisinin yüzey gerilimini yendiği anda çözelti toplama plakasında nano boyutlu malzemeler olarak toplanmaktadır. Bu yöntem ile elde edilen ipliksi yapılar insan saçından yaklaşık olarak 20.000 kat daha küçüktür (Süslü, 2009; Tang, 2015; Mitchell, 2015).

Üretilen elektroğirme ürününün morfolojik yapısını; çözeltinin pH'sı, yüzey gerilimi, elektriksel iletkenliği, kullanılan maddelerin kimyasal yapıları ve karışım oranlarıyla işlem sırasında uygulanan elektriksel güç, çözelti akış hızı, toplayıcı plaka uzaklığı gibi parametreler etkilemektedir (Haider ve ark., 2018).

Son zamanlarda elektroegirme cihazıyla yapılan çalışmalar oldukça fazladır. Vitaminler, uçucu yağ asitleri ve bazı probiyotik bakteriler (*Lactobacillus delbrueckii* spp *bulgaricus*, *L. pantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhammnous*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium bifidum* ve *B. animalis* vb.) mikro veya nanoenkapsülasyon yöntemiyle çeşitli maddelerin farklı kombinasyonları kullanılarak mikro ve nano boyutta enkapsllenerek raf ömürleri korunmaya ve etkinlikleri artırılmaya çalışılmıştır (Coelho ve ark., 2021; Sukumar ve ark., 2021).

2.2.2.1. Mikroorganizmaların nanoenkapsülasyonu

Genel olarak yapılan nanoenkapsülasyon çalışmalarda; mikroorganizmaların düşük pH direnci, simüle gastrointestinal sistemde canlılık stabilitesi, enkapslayan sonrası canlılık durumu, farklı depolama koşullarında ve farklı sürelerde canlılığını koruyabilmesi, enkapsüle materyalin çözünürlük ve enkapsülasyon verimi, termostabilitesi gibi birçok parametre değerleri araştırılmıştır (Youssef ve ark., 2020).

Ramazani ve ark. (2019), peynir altı suyu proteini izolatı (WPI, %7-12) ve guar gamın (GG, %0.7-0.9) farklı oranlarıyla elektroegirme yöntemini kullanarak nanolif üretmeye çalışmışlardır. Üretilen nanomateryalin optimizasyonu ve farklı ortamlardaki davranışları incelenmiştir. En uygun kombinasyonun WPI (%9), GG (%0.7) ve asidik koşullarda retilerildiği ifade edilmiştir.

Han ve ark. (2020), mikrokapsülasyon yöntemiyle *L. bulgaricus* ve *L. paracasei* suşlarını, peynir altı suyu protein izolatının (WPI) transglutaminaz enzimi ile indüklenen jelleşmiş materyal ile kaplamıştır. İkinci katman olarak da sodyum aljinat ve kriyoprotektant olarak trehaloz kullanılmıştır. Mikrokapsllenen probiyotik mikroorganizmaların simüle edilen gastrointestinal testleri yapılmış ve dondurulmuş depolamada canlılık durumlarının oldukça korunmuş olduğu bulunmuştur. Bu yöntemle probiyotik mikroorganizmaların korunmasının sağlanabileceği ifade edilmiştir. Xiao ve ark. (2020) aynı probiyotik mikroorganizmaları WPI ve ksantam gam ile mikrokapsüle etmişlerdir. Mikroorganizmaların safra sıvısında, termal koşullarda ve dondurarak depolamada canlılık stabilitesini önemli ölçüde koruduğu ifade edilmiştir.

Farklı oranlarda ekzopolisakkarit (EPS), peynir altı suyu proteini konsantresi, karboksimetil selüloz ve pektin ile sprey kurutma yöntemini kullanılarak *Lactobacillus*

plantarum (NR_104573.1) ve *Pediococcus pentosaceus* (NR_042058.1) bakterileri kapsüllenmiştir (Abedfar ve ark., 2021). Kapsüllenlen bakterilerin; simüle edilmiş mide sıvısı ve safra koşullarında, 28 günlük depolama sonrasında canlılık stabilitesi araştırılmıştır. 120 dakika safra tuzu çözeltisine muamele sonrasında *L. plantarum*'un canlılığı 12.49 log'dan 7.36 log'a inerken *P. pentosaceus*'un canlılığı 9.86 log'dan 6.11 log'a kadar korunabildiği, 28 günlük depolama sonrasında *L. plantarum*'un canlılığı 12.41 log'dan 7.28 log'a inerken *P. pentosaceus*'un canlılığı 12.11 log'dan 6.96 log'a düşmüştür.

Moghadam ve ark. (2021), *Bifidobacterium bifidum* bakterisini pennyroyal bitkisinin (*Mentha pulegium* L, nane türünden bir bitki) ekstraktı ve maltodekstrin-peynir altı suyu protein konsantresi ile mikroenkapsüle etmişlerdir. Mikroenkapsüle bakterinin canlılığı ve üretilen probiyotik yoğurdun fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri değerlendirilmiştir. Yoğurdun 15 günlük depolanması sırasında; pH ve sinesizisi azalırken viskozite ve antioksidan özelliklerinde artma görülmüştür. Bakteri canlılığı kontrole göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca duyuşal olarak daha çok beğenildiği ifade edilmiştir.

Akbar ve ark. (2018), elektroegirme yöntemiyle polivinil alkol materyalini kullanarak, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 ve *Lactobacillus paracasei* 431 probiyotik mikroorganizmaları nanoenkapsüle etmişlerdir. Enkapsüle mikroorganizmalara oda sıcaklığında, +4°C ve -20°C'de bir haftada canlılık tespiti yapılmıştır. Uygulama sonucunda mikroorganizma canlılığında yaklaşık 2.1×10^{-8} 'den 1.85×10^{-8} 'e düşüş görülmüş ve bu uygulamanın probiyotik mikroorganizmaları korumada kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Ragavan ve Das (2020), yaptıkları çalışmada, kolay gastrointestinal geçiş (GIT) için probiyotik maya *Saccharomycopsis fibuligera* (*S. fibuligera*) VIT-MN04'ü, elektroegirme tekniği kullanarak %5 polivinilpirolidon (PVP) ile birlikte buğday kepeği lifi (WBF) ve ekzopolisakkarit (EPS) ile kapsüllemiş ve potansiyel özelliklerini araştırmışlardır. Kapsüllü *S. fibuligera*'nın hayatta kalması VIT-MN04, in vitro sindirim sırasında serbest hücrelere kıyasla artmıştır. Ek olarak, kapsüllenmiş maya hücreleri, 4°C'de 56 gün boyunca saklama sırasında canlılıklarını korumuştur. Bu çalışma; probiyotik mayanın nanofiberlerle kapsüllemesi için etkili bir yaklaşım sağladığını, WBF gibi prebiyotiklerin uygulamasını genişletebilir ve gıda endüstrisinde fonksiyonel

simbiyotik takviyelerin verimli bir şekilde hazırlanması için bir fikir olarak ileri sürülmüştür.

Dwivedy (2018), yıldız anason çiçeğinden, antifungal ve antiaflatoksijenik uçucu yağ asitlerini ekstrakte etmiştir. Ekstrakt, nanoenkapsülasyon yöntemiyle enkapsüle edilerek etkinliğini koruma gücü sağlanmaya çalışılmıştır. Enkapsüllenen uçucu yağ asidi, gıda kaynaklı küflerin (*Trichoderma viride*, *Aspergillus sydowii*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus sulphureous*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus terreus*) aflatoksin B1 üretimini baskılayıcı katkı maddesi olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Çanga (2020), açılı çift nozul elektroegirme sistemi kullanarak polivinil alkol (PVA) ile selüloz asetat (cellulose acetate, CA) hibrit fiberleri üretmiştir. Kullanılan bu sistem sayesinde PVA çözeltisi içine inoküle edilmiş olan *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN), CA'nın çözücüsüne maruz kalmadan hibrit fiberlere enkapsüle edilmiştir. Daha sonra sindirim sistemi simülasyonu, hibrit fiberlere enkapsüle edilmiş probiyotik mikroorganizmaların sindirim sistemi direnci araştırılmıştır. PVA/CA-EcN fiberlerinin simülasyon sonuçları değerlendirildiğinde sadece serbest EcN'ye karşı değil aynı zamanda PVA/PVA-EcN fiberlerine kıyasla daha yüksek canlılık sonuçları elde edilmiştir. Bu durum üretilen PVA/CA fiberlerinin probiyotik mikroorganizmaların sindirim sistemi koşullarına direncini artırmak amacıyla kullanılabilecek bir enkapsülasyon materyali olduğunu göstermektedir. Son olarak farklı sıcaklıklarda yapılan depolama süresinin sonunda PVA/CA-EcN fiberleriyle probiyotiklerin canlılığının uzun süre korunabildiği görülmüştür.

Youssef ve ark. (2021), *Lactobacillus salivarius subsp. salivarius* CGMCC No. 1.1881'yi tek ve çift kat olarak enkapsüle ederek gastrointestinal sistem, farklı sıcaklık koşulları ve depolama süresince canlılık testine tabi tutmuşlardır. Birinci katmanda WPI ve sodyum aljinat kullanırken, ikinci enkapsüle materyalinde; mısır yağı, Tween 80 ve kalsiyum klorür kullanılmıştır. Enkapsülasyon verimi %96 olarak ifade edilmiştir. Bu yöntemin probiyotik mikroorganizmaları korumada kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Probiyotiklerin canlılığını iyileştirmek için yapılan bir çalışmada (Mojaveri ve ark., 2020), *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb12 suşu, kitosan ve polivinil alkol ile nanoenkapsüle edilmiştir. Ayrıca enkapsülasyona prebiyotik olarak inülin de ilave edilmiştir. Canlılık testleri simüle edilmiş mide bağırsak sıvılarında gerçekleştirilmiş ve

bu yöntemin fonksiyonel gıda üretimi için uygun olabileceği ifade edilmiştir. Lopez-Rubio, A. ve ark., (2012) tarafından aynı mikroorganizma üzerinde, Peyniraltı suyu protein konsantratu ve pullulan ile yapılan nanoenkapsülasyonun olumlu sonuçlar verdiği ifade edilerek bu yöntemin fonksiyonel gıda üretimleri için iyi bir yol olduğu vurgulanmıştır.

Yılmaz ve ark. (2020), elektroğirme yöntemiyle aljinat temelli nanofiberler oluşturarak *Lactobacillus paracasei* KS-199 suşunu nanoenkapsüle etmişlerdir. Nanofiberlerin boyutu 305 nm ölçülürken enkapsülasyon verimi %85.87 olarak tespit edilmiştir. Nanoenkapsüllenen suş simüle edilmiş gastrointestinal sistemde canlılığını %70.8 oranında serbest kontrol hücrelerine karşı (%64.1)koruduğu gösterilmiştir. Bu nanoenkapsülleme yönteminin probiyotik mikroorganizmaları korumada kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Bakteriyel selüloz ve polivinil alkol ile elektroğirme yöntemi kullanılarak *Lactobacillus acidophilus* 016 bakterisi de nanokapsüle edilmiştir (Jayani ve ark., 2020). 35C’de 24 gün depolamadan sonra canlılığını %71 oranında koruduğu belirtilmiştir. Çeşitli ticari uygulamalar için bu nanoenkapsülleme yönteminin uygulanabileceği ifade edilmiştir.

Fonksiyonel balık filetoları elde etmek için yapılan bir araştırmada (Ceylan ve ark., 2019), polivinil alkol temelli nanofiberler ile *Lactobacillus reuteri* E81 suşu enkapsüle edilmiştir. Enkapsüle edilen suş ile kaplanan balık filetolarında serbest radikallerin inhibisyonunun sağlanmasıyla önemli ölçüde antioksidatif özellikte artış görülmüştür. Nanoenkapsülasyon yönteminin fonksiyonel gıda üretimi için uygun bir metot olduğu ifade edilmiştir.

Lactobacillus plantarum ATCC 8014 suşu da polietilen oksit kompozitleriyle nanoenkapsüle edilmiştir (Skrlec ve ark. (2019). Kriyoprotektant olarak trehaloz şekeri kullanılmış ve enkapsüle mikroorganizmaların düşük sıcaklıkta 24 haftaya kadar canlılıklarını muhafaza ettikleri belirlenirken, 30 dakika kadar sürede hücre salınımı gerçekleşmiştir. Ayrıca Nanoenkapsüle materyale 7.6×10^8 CFU/mg yükleme yapılabilmektedir. Bu yöntem ve uygun kompozitin istenilen yerde probiyotik bakterilerin dengelenmesinde kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Bir başka çalışmada *Lactobacillus* sp. (*L. rhamnosus* KLDS 1.0320, *L. acidophilus* KLDS 1.0327, *L. plantarum* KLDS 1.0328 ve *L. casei* KLDS 1.0338)

türlerini arabik gam ve pullulan ile nanoenkapsüle etmek için nanofiberler oluşturulmuştur (Ma ve ark., 2021). Nanoenkapsüllenen *Lactobacillus* sp.'lerinin 28 günlük depolama süresi sonunda dondurulanlara göre canlılık oranları oldukça yüksek bulunmuştur (80.92–89.84%'e karşılık 85.38–97.83%). Hem pullulan hem de arabik gamın prebiyotik olması probiyotik mikroorganizmaların korunmasında yeni bir yaklaşım olduğu ifade edilmiştir.

Ajalloueian ve ark. (2022), probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) bakterisini çoklu tabaka şeklinde kaplayarak mide sıvısından canlılığını koruyarak geçmesini sağlamaya çalışmışlardır. Bakteri önce %20 trehaloz- yağsız süt tozu ortamında spreyci kurutma yapılmış, ardından pullulan ile elektroğirilerek enkapsüle edilmiş ve son olarak poli laktik-ko-glikolik asit ile tekrar elektroğirilerek nanoenkapsüle edilmiştir. Çalışma in vivo ve in vitro ortamda denenmiştir. Poli laktik-ko-glikolik asit kaplaması, pullulanın mide mukozasında çözünmesini engellemek için yapılmıştır. Üç kat kaplama yapılan örnekteki *Lactobacillus rhamnosus* canlılığını koruyarak bağırsak ortamına geçmeyi başarmıştır. Spreyci kurutma ve pullulan enkapsülasyonu olan örnekler mide sıvısını canlı olarak geçememiştir. Bu örneklerin oda sıcaklığında 1-30 ve 70 günlük canlılık stabilitesi de çalışılmıştır. Spreyci kurutma örnekleri 30. günde %5, 70. günde %0.04 hayatta kalırken; pullulan ile kaplı örnekler 30. günde %65, 70. günde %2 hayatta kalabilmiştir. Üç katmanlı örnekler pullulan ile karşılaştırıldığında daha fazla canlılıklarını koruduğu görülmüştür. Sonuç olarak probiyotik mikroorganizmaların mide sıvısını geçmesinde bu yöntemin kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmalar üzerine yapılan farklı bir çalışmada ise *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 bakterisi elektroğirme yöntemiyle pektin ve poli vinil alkol ile nanoenkapsüle edilmiştir (Xu ve ark., 2022). Çalışma sonucunda; *Lactobacillus rhamnosus*' un canlılığını %89.26 oranında koruduğu görülmüştür. Ayrıca nanolifler 4 °C'de 21 günlük depolama sonucunda canlılığını %84.63 oranında korumuştur. Pektin ve poli vinil alkol nanolifinin probiyotik mikroorganizma muhafazasında ve probiyotik ürün üretiminde kullanılması uygun olduğu belirtilmiştir.

Farklı bir çalışmada araştırmacılar (Atraki ve Azizkhani, 2021), mısır nişastası ve sodyum aljinattan elektroğirme ile nanofiberler oluşturarak; probiyotik *Lactobacillus acidophilus* (LA5), *Lactobacillus rhamnosus* 23,527 LGG, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium animalis* bakterilerinin simüle edilmiş gastrointestinal ve mide sıvısı

ortamında canlılıklarını belirlemeye çalışmışlardır. Elektroeğrilme sonucunda; laktobasillerde %94.1 ve bifidobakterilerde %89.4 oranında canlılık tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda; mide ve bağırsak sıvısı ortamında 2 saatlik süre sonunda laktobasillerde 1.58 log ve bifidobakteriler de 1.03 log azalma olurken, enkapsüle olmayan bakteriler canlılıklarını kaybetmiştir. Simüle edilmiş gastrointestinal bu sistemde 3 saatlik süre sonunda ise başlangıç değerlerine göre laktobasillerde 3.02 ve bifidobakterilerde 2.55 log CFU azalma gerçekleşmiştir. Sonuç olarak; farklı probiyotik bakterilerin canlılıklarını koruyacak farklı madde kompozisyonları seçilerek çalışmalar yapılabilceği ifade edilmiştir.

Mısır nişastası ve sodyum aljinatın kullanıldığı başka bir çalışmada da; probiyotik *Lactobacillus acidophilus* (LA5), *Lactobacillus rhamnosus* 23,527 LGG, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium animalis* bakterileri nanoenkapsüle edilerek; asidik ortamda (pH:7.0-4.5-2.8), farklı sıcaklıklarda (55°C-60°C -65°C) ve yoğurt içinde 20 gün 4°C’de canlılık stabilitesi çalışılmıştır (Ghorbani ve Maryam, 2021). Yoğurdun 20 gün depolanmasından sonra canlılık sayımında; laktobasillerde %97.9, bifidobakterilerde %96.9 canlılık korunur iken nanenkapsüle edilmeyen laktobasillerde %87.7, bifidobakterilerde ise %86.3 canlılık korunduğu tespit edilmiştir. Asidik ortam şartlarına, laktobasillerin bifidobakterilerden daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile probiyotik mikroorganizmaların hem bireysel hem de farklı kombinasyonlarının farklı materyallerle enkapsülendirilerek canlılık oranlarının artırılabilceği belirtilmiştir.

Romero-Chapol ve ark. (2022), *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG bakterisini bir çözelti hazırlayarak (Sodyum aljinat, Tween 80, bitkisel yağ) manyetik (M) ve ultraturrax (U) işlemi ile enkapsüle etmiştir. Enkapsüle bakterinin canlılığını; gastrointestinal, elma suyu ve fermente yoğurt içerisinde tespit etmişlerdir. Sonuç olarak; M ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %76.59 iken U ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %85.80 olarak bulunmuştur. Gastrointestinal koşullarda serbest bakteri canlılığı %88.28 iken M ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %97.22 ve U ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %100.0 olarak bulunmuştur. Buzdolabı koşullarında saklanan elma suyunda; serbest bakteri canlılığı %80.50 iken M ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %86.16 ve U ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %100.81 olarak bulunmuştur. Buzdolabı koşullarında saklanan fermente yoğurt içerisinde ise; serbest bakteri canlılığı %92.54 iken M ile

enkapsüle edilen bakteride canlılık %102.04 ve U ile enkapsüle edilen bakteride canlılık %112.14 olarak bulunmuştur. Bu yöntemin probiyotik bakterilerin canlılıklarını farklı ortamlarda korumak için uygulanabilir metot olabileceği ifade edilmiştir.

Probiyotik bir maya (*Saccharomycopsis fibuligera* VIT-MN04) üzerine yapılan bir araştırmada da maya; buğday kepeği, ekzopolisakkarit ve polivinilpirolidonun farklı oranları ile elektroğirme yöntemi kullanılarak nanoenkapsüle edilmiştir (Ravagan ve Das, 2020). Nanoenkapsüle mayanın; 25 °C, 4°C'de ve in vitro gastrointestinal ortamdaki canlılığını koruması çalışılmıştır. Sonuç olarak nanoenkapsüle edilen maya hücreleri gastrointestinal ortamda %97 canlılık gösterirken nanoenkapsüle edilmeyen örnek %82 canlı olarak kalabilmiştir. Ayrıca nanoenkapsüle edilen maya 4°C'de 56 gün depolamada canlılığını önemli ölçüde koruyabilmiştir. Bu yöntem ile probiyotik mayalarında canlılıklarını uzun süre ve farklı ortamlarda koruyabilecekleri vurgulanmıştır.

Feng ve ark. (2020), probiyotik *Lactobasillus plantarum* bakterisini polivinilalkol ve sodyum asetatın farklı oranlarıyla çift kat olarak elektroğirme ile nanoenkapsüle etmişlerdir. Kaplanan bakterinin simüle gastrointestinal sistemde canlılığını korumasına ve farklı sıcaklık koşullarındaki termal stabilitesine bakılmıştır. Sonuç olarak; nanoenkapsüle bakteri simüle gastrointestinal sistemde kontrole göre 0.32 log kadar azalma göstermiştir Termal stabilite denemesinde de nanoenkapsüle edilen bakteri canlılığını önemli derecede korumuştur. Bu materyallerin ve yöntemin probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını korumak için uygulanabileceği belirtilmiştir.

Probiyotik *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* bakterisi üzerine yapılan araştırmada bakteri çift nozullu elektroğirme aracılığıyla içte maltodekstrin, gliserol dışta etil-selüloz ile nanoenkapsüle edilmiştir (Moreno ve ark., 2021). Nanoenkapsüle bakterinin canlılık stabilitesi araştırılmıştır. 30 °C'de 4 hafta depolama sonrasında kontrole göre canlılık oranı; nanokapsüllenen örnekte 3 log azalma olurken kontrol örneğinde 7.57 log kayıp tespit edilmiştir. Bu çalışma, probiyotik bakterilerin canlılığını korumada kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Chen ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, peynir altı suyu protein izolatu ve transglutaminaz enziminin jelleşme etkisini kullanarak emülsiyon oluşturmuşlardır. Emülsiyon içerisine Probiyotik *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisini ekleyerek soya yağı içerisinde enkapsüle etmişlerdir. Enkapsüller tekrar sodyum aljinat çözeltisi ile kaplanarak çift katmanlı mikrokapsüller oluşturulmuştur. Çalışmanın

devamında mikrokapsüller; simüle gastrointestinal ortamda ve farklı sıcaklıklarda depolanması sırasındaki canlılık stabilitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak; simüle mide sıvısı ortamında %71.4, safra tuzu ortamında %58.5 oranında canlılığını koruyabilmiştir. Serbest hücrelerin 37°C’de 28 günlük depolanmasında 5.18 log azalma olurken, mikrokapsüllenen hücrelerin 60 günlük depolanmasında 4°C’de canlılık kaybı 1.15 log ve -20°C’de 0.55 log olarak tespit edilmiştir.

2.2.2.2. Vitamin, biyopolimerler, çeşitli yağlar, antioksidan ve bitki ekstraktlarının nanoenkapsülasyonu

Nanoenkapsülleme yöntemi sadece mikroorganizmalar üzerinde uygulanmamakta, farklı materyaller üzerinde farklı çalışmalar da yapılabilmektedir. Duru Kamacı ve Peksel (2022), börülce tohumlarından elde edilen fitaz enzimini polivinilalkol ile nanoenkapsüle ederek; enzimin sıcaklık ve pH’ya karşı stabilitesini incelemişlerdir. Serbest enzime göre nanoenkapsüle enzimin optimum aktivitesi pH: 5.0’te 45 °C’den 65°C’ye yükselmiştir. Polivinilalkol ile nanofiber oluşturulan hareketsizleştirilmiş fitazın enzimatik aktivitesi, yüksek sıcaklıklarda daha yüksek termal stabilite göstermiştir. Bu sonuçlar fitaz enziminin; tarım, hayvan yemi, gıda ve tıbbi uygulamalarda daha yüksek sıcaklıklarda kullanılabilirliğini artıracığını göstermektedir.

A vitamininin kaplanması üzerine yapılan bir araştırmada, A vitaminini tere tohumu müsilağı/polivinil alkol ile farklı konsantrasyonlarda nanoenkapsüle edilerek; vitamininin termal stabilitesi, simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvılarında salım davranışı incelenmiştir (Fahami ve Fathi, 2018). Sonuç olarak; nanoenkapsüle vitaminin termal stabilitesi artarken simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvılarında salınım süresi uzamıştır. Üretilen nanolifler ile gıda biyoaktif maddelerin asidik koşullara karşı stabilitesini arttırmak için uygun taşıyıcılar olabileceği ifade edilmiştir.

Nar çekirdeği yağının değerlendirilmesi için polivinilalkol ve Tween 20 ile nanoenkapsüle ederek bir kaplama materyali oluşturulmuştur (Kutlu ve ark., 2022). Bu nanomateryal ile de kaşar ve balık filetoları kaplanarak depolama sırasında nar çekirdeği yağının antimikrobiyal özelliği araştırılmıştır. Kaşar peynirinin 20 günlük depolama süreci sonunda TAMB (Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri) sayısında 1.3 log azalma görülürken, balık filetolarının 9 günlük depolanmasında 1.22 log azalma gözlemlenmiştir. Sonuçlar kaplama yapılmayan örnekler göre değerlendirilmiştir. Depolama boyunca

peynir örneklerinde maya-küf oluşumu artarken kaplama yapılan örneklerde küflenme daha az olmuştur. Ayrıca nanomateriyallerin gıda numunelerinin oksidatif stabilitesini de artırdığı ifade edilmiştir.

Dwivedy (2018), yıldız anason çiçeğinden, antifungal ve antiaflatoksijenik uçucu yağ asitlerini ekstrakte etmiştir. Ekstrakt, nanoenkapsülasyon yöntemiyle enkapsüle edilerek etkinliğini koruma gücü sağlanmaya çalışılmıştır. Enkapsüllenen uçucu yağ asidi, gıda kaynaklı küflerin (*Trichoderma viride*, *Aspergillus sydowii*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus sulphureous*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus terreus*) aflatoksin B1 üretimini baskılayıcı katkı maddesi olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Seyrekoğlu (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı kantaron bitki ekstraktlarının maltodekstrin ve gam arabik ile mikroenkapsüle ederek ayrına fonksiyonel özellik kazandırılmaya çalışılmıştır. Ayran örnekleri depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 28. gününde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Ayran örneklerinde yapılan analizlerde özellikle toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri 21. güne kadar korunmuştur. Bu çalışma ile sağlık açısından son derece önemli olan bitkilerin enkapsülasyon tekniği ile gıdalarda kullanımı gerçekleştirilmiş ve planlanan fonksiyonel bir ürün üretimi sağlanmıştır.

Peyniraltı suyundan elde edilen laktoferrinin nanoenkapsülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada (Balcao ve ark., 2013), laktoferrin enkapsüle edilerek, laboratuvar ortamında antimikrobiyal ve klasik testler gerçekleştirilmiştir. Test sonuçları istatistiki olarak uygun bulunmuştur. Nanoenkapsüle laktoferrinin konak savunması, prebiyotik aktivite için kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Shruthi ve ark. (2021), kateşinin biyoyararlılığını kullanabilmek için proniozom ile nanoenkapsüle etmişlerdir. Proniozom; sürfaktan olarak Span 60, stabilizör olarak kolesterol, duvar materyali olarak maltodekstrin, laktoz monohidrat ve pullulan kullanıldığı toz bir elektroegirme ürünüdür. Nanoenkapsüllenen kateşinin; in vitro gastrointestinal sistemdeki salınımı ile süt ve yoğurdun fonksiyonel özelliklerinde iyileştirmesine bakılmıştır. Araştırma sonucunda; nanenkapsüle kateşin, süt ve yoğurtta gözle görülür bir olumsuzluk yaratmaz iken yoğurdun organoleptik özelliklerini iyileştirmiştir. İn vitro gastrointestinal sistemde nanenkapsüle kateşinin, 8 saatin sonundaki salınımı kontrole göre %88.8'den %62.8' e kadar yavaşlamıştır. Kateşinin

yavaş salınımı biyoyararlılığını artırdığı ifade edilmiştir. Proniozom için pullulanın en uygun duvar materyali olduğu da vurgulanmıştır.

Gökkuşağının taze balık filetolarının kalitesini ve raf ömrünü uzatmak için elektroegirme yöntemiyle; farklı oranlarda peynir altı suyu proteini izolatu, gliserol ve ısırgan otu ekstraktından kaplama yapılmıştır (Erbay ve ark., 2017). Kaplanan fileto 4°C’de 15 gün depolanarak bazı özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak; mezofilik, psikrofilik ve Enterobacteriaceae sayısında kontrole göre önemli derecede düşüş gerçekleşmiştir. Ayrıca toplam uçucu bazik azot ve tiyobarbitürik asit değerlerinde de düşük değerler gözlemlenmiştir. Bu yöntemin daha da geliştirilerek gıda teknolojisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Ceylan ve ark. (2017), tarafından balık filetolarının kaplanmasında kitosan nanofiberi üretilmiş ve depolama sırasında nanoenkapsüle materyalin filetoyu bakteri, maya ve küflere karşı koruması araştırılmıştır. Kitosan nanofiberlerinin mikrobiyal gelişimi %40-50 kadar inhibe ettiği ifade edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi gerek gıdalara fonksiyonellik kazandıracak bileşiklerin gerekse farklı probiyotik mikroorganizmaların mikro ve nano enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Ancak fermente bir ürünün starter kültürü (yoğurt, peynir, kefir veya tereyağı vb.) tam olarak çalışılmamış ve dolayısıyla bir ürün denemesi yapılmamıştır. Ayrıca yapılan literatür taramalarında yoğurt starter kültür bakterilerinin birlikte nano veya mikro kapsülasyon ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu tez çalışmasında hedefimiz; geleneksel yoğurt starter kültürü olan (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile *Streptococcus thermophilus*) mikroorganizmaları son teknolojik gelişmelerin bir ürünü olan elektroegirme cihazıyla **Nanoenkapsüle** etmektir. Elektroegirme yöntemi daha önce kapsülasyonda kullanılan; emülsiyon, ekstrüzyon, sprey kurutma, koaservasyon, dondurarak kurutma gibi yöntemlere göre avantajlara sahiptir. Elektroegirme işleminin oda sıcaklığında yapılabilmesi, düşük maliyetli olması, yüksek basınç veya fiziksel kuvvete ihtiyaç duyulmaması gibi yönleriyle tercih edilmiştir. Ayrıca nanoenkapsüle edilen mikroorganizmaların canlılık stabilitesi diğer yöntemlere göre oldukça yüksektir. Nanoenkapsülasyonda temel taşıyıcı materyal olarak, peyniraltı suyu protein izolatu (PWI, 90 g protein/100 g) ile prebiyotik özelliği olan salep nanoenkapsül oluşumunda denenmiştir.

Peyniraltı suyu ürünleri birçok çalışmada farklı maddelerle karıştırılarak denemeler yapılmıştır. Ancak salep elektroğirme yöntemiyle nanoenkapsülasyonda ilk defa kullanılmıştır.

Yaptığımız çalışmada; elektroğirme yöntemiyle PWI ve salep glukomannanı nanoenkapsülasyon materyali olarak optimizasyonu sağlanarak **Nanotüp** şeklinde madde üretilebilmiştir. Bu materyal ile yoğurt bakterileri nanoenkapsüle edilmiştir. Nanoenkapsüle starter kültür ile yoğurt üretimi yapılarak ürün; fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal açıdan değerlendirilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kültürün temini

Geleneksel yoğurt starter kültür bakterileri (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile *Streptococcus thermophilus*), Erzurum Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir. Söz konusu bakteriler, Türkiye'nin çeşitli illerindeki yöresel yoğurt ürünlerinden izole edilmiştir (Fırat, 2019). Alınan izolatlar; (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) **Ab1**, **Ab2** ve (*Streptococcus thermophilus*) **As1**, **As2** şeklinde kodlanarak tekrardan M17 agar ve MRS agara ekimler yapılmak suretiyle tek koloni olduğu kontrol edilerek stoğa (%30 Gliserol 1/2 Nutrient broth, -80°C) alınmıştır. Bundan sonraki bütün çalışmalar bu stoklar üzerinden yapılmıştır (Demirci, 2017; Taye ve ark., 2021).

3.1.2. Salep temini

Çalışmada kullanılan salep tozu, Kadem Salepçilik'ten (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Firma, salebin Kastamonu yöresine ait orkide türlerinden üretildiğini beyan etmiştir. Yapılan çalışmalarda salep tozunun bileşimi genel olarak; %7-61 glukomannan, %1-36 nişasta, %0.5-1 azotlu madde ve %0.2-6 külden oluştuğu ifade edilmiştir.

Salep tozu suda veya herhangi bir çözücünde tamamen çözünmemektedir. Yapacağımız çalışmada çözünmeyen partiküllerin kalması hem istenmemekte hem de çalışma sonrasında yapılacak SEM (Scanning Electron Microscopy) analizinde yanlış sonuçlara sebep olacağı düşünülmektedir. Bunun için salep tozunun suda çözünürlüğü, daha önce yapılan çalışmalardaki yöntemler modifiye edilerek bulunmuştur (Bult-Solak ve ark., 2017; Kurt ve Kahyaoğlu, 2017).

3.1.3. Peyniraltı suyu tozu (WPI) temini

Peyniraltı suyu tozu, Enka Süt ve Gıda Mam. San. ve Tic. A.Ş.'den (Konya, Türkiye) temin edilmiştir. Ürün, %90'lık demineralize peyniraltı suyu tozu (90g

protein/100g) olarak isimlendirilmiştir. Ürünün, firma tarafından yapılan analiz sonuçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. WPI’nın duyuusal, kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik analiz sonuçları

Duyuusal özellikler	Tat-Koku	Uygun		
	Renk	Uygun		
	Yapı	Uygun		
Fiziksel Özellikler	Parametre	Ölçülen Değer	Limiti Değer	Metot
	Yoğunluk, g/cm ³	0.678	>0.60	NDRG 1978
	Çözünmezlik İndeksi, ml	0.3	<1	ADPI
	Yabancı Yanık Madde	B	Disk A/B	ADPI
Kimyasal Özellikler	Nem, m/m	1.88	< 4	103°C
	Yağ, m/m	0.50	< 1.5	Gerber
	Kül, m/m	1.92	< 2.5	850°C
	Laktoz, m/m	92.90	> 85	Hesaplama
	Asitlik (Laktik asit cinsinden)	0.13	< 0.17	0,1 N NaOH
	pH	6.30	> 6.0	%10’luk
	Tuz, m/m	0.70	< 1.0	0,1 N AgNO ₃
	Aflatoksin M1, µg/kg	0.40	Max. 0.5	ELİSA
	Antibiyotik	Yok	Bulunamadı	Delvotes
	Koagulaz pozitif Stafilokok, cfu/gr	Yok	< 10	37°C, BPA
Mikrobiyolojik Özellikler	TAMBS, cfu/gr	7800	< 10,000	30°C, PCSA
	Enterobakter, kob/gr	Yok	< 10	37°C,GVRBA
	<i>E.coli</i> , Kob/gr	Yok	< 3	37°C, Fıct, VRBA
	<i>S.aureus</i> , Kob/gr	Yok	< 10	37°C, BPA
	Küf ve Maya, Kob/gr	Yok	< 10	25°C,YGCA
	<i>Salmonella spp</i> , Kob/25gr	Yok	Bulunamadı	VİDAS
	<i>L.monocytogenes</i> , cfu/gr	Yok	Bulunamadı	VİDAS
	<i>B.cereus</i> , cfu/gr	Yok	< 10	İSO 21871

3.1.4. Elektroğırme cihazı

Elektroğırme cihazı, Erzurum Atatürk Üniversitesi Teknokent içerisinde Faraday Elektrik Elektronik San. ve Tic. Ltd. Şti.’ne yaptırılmıştır. Cihaz Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarına kurulmuştur. Cihaz,

0-30 kV ve 0-1 mA hassasiyette kurgulanmıştır. Cihaz istenen özelliklerde çalışmaktadır. Cihazda madde üretimi oda sıcaklığı ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) koşullarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.5. Yoğurt yapımında kullanılan sütün temini

Yoğurt yapımında kullanılan süt, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi içerisinde kurulmuş olan Sütkur Firmasından temin edilmiştir. Alınan süt, firma tarafından yoğurt üretimi için standardize edildikten sonra alınmıştır. İşletmede sütün; pH değeri 6.65, yağ oranı %3.6 ve kuru madde oranı ise %13.5'e ayarlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolatların yoğurt starter kültür olarak kullanım potansiyelini belirleyen analizler

İzolatların yoğurt starter kültür olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesi için; pH değişimi, %laktik asit üretimi, proteolitik aktivite, aroma oluşturma profili ve spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi gerekmektedir (Kayacan Çakmakoglu, 2022).

İzolatlar bazı teknolojik performanslarının belirlenebilmesi için -80°C 'deki stoktan aktifleştirilmiştir. Bunun için, 20 μL *Lb. bulgaricus* izolatu 5 mL MRS broth içeren tüplere, 20 μL *Str. thermophilus* izolatu ise 5 mL M17 broth içeren tüplere aktararak inkübe edilmiştir. *Lb. bulgaricus* içeren tüpler 43°C 'de 72 saat süreyle anaerobik kit (Anaerocult® A) ve jar kullanımıyla inkübe edilmiştir. *Str. thermophilus* içeren tüpler ise 37°C 'de 24 saat süre ile aerobik koşullarda inkübe edilerek aktivasyonları gerçekleştirilmiştir (Albano ve ark., 2018).

3.2.1.1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi

İzolatların stoktan aktivasyonu sağlanarak 24 h'lik gelişiminden 20 μL alınıp 20 ml besi yerlerine inokülasyon yapılmıştır. *L. bulgaricus* için MRS broth kullanılarak 43°C 'de, *Str. thermophilus* için ise M17 broth kullanılarak 37°C 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0/3/6/9/12/18/24h'lerinde spektrofotometre (UV-1800 SHIMADZU) ile 600 nm'de OD₆₀₀ değerlerinin ölçümünden yararlanılmıştır. Absorbansı

1000 birimi geçen değerler seyreltilerek okuma yapılmıştır. Spesifik gelişim oranı μ ile gösterilerek hücrelerin birim zamandaki büyüme hızı olarak ifade edilmektedir. Birimi g/1 şeklinde gösterilmektedir. İzolatların spesifik gelişim oranları Eş.3.1'e göre hesaplanmıştır (Kayacan Çakmakoglu, 2022).

$$\text{Max. Spesifik Gelişim Oranı } (\mu) = [(OD_{600t24} - OD_{600t0}) / 24] * 2.303 \quad (3.1)$$

μ : Max. Spesifik Gelişim Oranı (g/1)

OD_{600t0} : Başlangıç absorbansı (nm)

OD_{600t24} : 24 h'deki absorbansı (nm)

3.2.1.2. İzolatların pH değişimi ve laktik asit üretim potansiyeli

İzolatların asidifikasyon yetenekleri iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Tekli izolatlar için MRS ve M17 broth kullanılırken kombine edilen izolatlar için %10 KM'li rekonsititüye yağsız süt kullanılmıştır. Rekonsititüye yağsız süt 110°C'de 10 dk. otoklavda sterilize edilmiştir. Hazırlanan besi ortamlarına, (OD_{600}) değerleri yaklaşık $1.5 \cdot 10^8$ kob/ml olacak şekilde inokülasyon yapılarak 43°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 0/3/6/18/24/48h'lerinde pH metre (WTW Multi 3420 SET G) ile ölçümleri alınmıştır.

İzolatların asitlik gelişimi, %Laktik asit cinsinden potansiyometrik olarak 0.1N NaOH ile titrasyon yöntemiyle belirlenmiştir (Metin, 2012). İnkübasyonun 0/3/6/18/24/48h'lerinde pH'nın 8.30 ayarlanmasında harcanan 0.1N NaOH'in miktarı Eş.3.2'de yerine konarak hesaplanmıştır (Ray ve Sandine, 2019).

$$\% \text{Asitlik (Laktik asit)} = [(V * N * 0.009 / m)] * 100 \quad (3.2)$$

V: Harcanan 0.1N NaOH'in miktarı (ml)

N: NaOH'in normalitesi (0.1N)

m: Analiz edilen numunenin hacmi (ml)

NaOH'in asitlik değeri (0.009)

3.2.1.3. İzolatların proteolitik aktivite potansiyeli

Stoktan aktifleştirilen izolatların proteolitik aktivite düzeyleri hem tek tek hem de kombine edilerek gelişme ortamında meydana gelen tirozin miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle bulunmuştur.

Aktifleştirilen izolatlar 2. defa pasajlanarak İnkübasyonun 18. h de 3500 rpm hızıyla 5 dk. santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen pellet, serum fizyolojik su (%0.9 NaCl) ile seyreltilerek $OD_{600} = 0.1$ olacak şekilde ayarlanmıştır. 121 °C’de 5 dk otoklav edilen %10’luk 5 ml yağsız süttozu besiyerine %1 oranında ekimler yapılarak 37 °C’de 72 h inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda 5 ml yağsız kültür üzerine 1 ml distile su ve 10 ml 0.72 N TCA (Trikloroasetik asit) eklenerek proteinler çöktürülmüş, 10 dk bekletilerek Whatman no:1 (125 mm)’den filtre edilmiştir.

Filtrattan 5 ml alınarak üzerine; 10 ml (15 gr Na_2CO_3 + 2 gr $Na_4P_2O_7$: 100 ml distile su) çözeltisinden, 3 ml fenol ayırıcı (1 ml Folin + 2 ml distile su) eklenerek karıştırılmış (renk maviye dönmektedir) ve 2500 rpm’de 3 dk santrifüj edildikten sonra üst faz 650 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır (Tulini ve ark., 2016; Toe ve ark., 2019).

Sonuçların değerlendirilmesi için Çelik, (2020) tarafından yapılan metot modifiye edilerek Tirozin standart eğrisi çizilmiştir. Konsantrasyon olarak 0.0- 0.05- 0.1- 0.15- 0.20-0.25 ve 0.4 mg/ml tirozin derişimleri hazırlanmıştır. Numune üzerine eklenen kimyasal çözeltiler aynı oranda bu derişimlere de ilave edilmiş ve 650 nm dalga boyunda ölçümler yapılarak standart eğri oluşturulmuştur.

3.2.1.4. Seçilen kültür kombinasyonlarıyla yapılan yoğurtların aroma profilinin belirlenmesi

Han ve ark. (2020), tarafından uygulanan metoda göre; stoktan *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* 5 ml MRS ve M17 brothta ekimler yapılarak 24 h’lik aktivasyon gerçekleştirilmiştir. Bu izolatlar ikinci kez 50’şer ml’lik brothlara tekrar pasajlanarak 16-20 h inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 6000g’de 10 dk. santrifüj edilmiş ve 2 kez fizyolojik (%0.09 NaCl) suyla yıkanarak son konsantrasyon OD_{600} ’de 3×10^8 kob/ml

olacak şekilde ayarlanmıştır. Yoğurt üretimi için ticari bir firmanın (UHT %3 yağlı sterilize süt) sterilize sütü kullanılarak 30 ml'lik 6 paralel yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimde **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** kombinasyonlarındaki izolatlar 1/1 oranında inoküle edilmiştir. İnkübasyonun, pH 4.60'ya indiği zaman durdurulmuştur.

Üretilen yoğurtlardaki asetaldehit miktarı iyodometrik olarak Lees ve Jago (1969)'nun bildirdiği yöntemle göre hesaplanmıştır. Bu amaçla kombine izolatlardan üretilen yoğurt örnekleri 1 ay boyunca 1.-7.-14.-21. ve 28. 'inci günlerinde; 10 g yoğurt örneği 30 ml saf su ile mikro kjeldahl düzeneğine verilmiş ve düzenekten 10 ml distilat toplanmıştır. Distilattaki asetaldehiti bağlamak için ortama 1 ml 0.25 M sodyum bisülfid çözeltisi ilave edilmiştir. Sodyum bisülfid ve asetaldehit arasında meydana gelen reaksiyonu geri dönüşümsüz hale getirmek amacıyla karışımın pH'sı 0.1 N NaOH çözeltisiyle 9'a ayarlandıktan sonra örnek kabının ağzı kapatılarak karanlık bir yerde 15 dakika bekletilmiştir. İndikatör olarak %1'lik nişasta çözeltisinden 1 ml katılarak, mor renk elde edilinceye kadar önce 0.1 N iyot çözeltisi ile titre edilmiştir. Ardından 1 g NaHCO₃ ilave edilerek 0.005 N iyot çözeltisi ile yeniden mor renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. 0.005 N iyot çözeltisinden harcanan miktar Eş.3.3'te verilen formüle yerine konularak ppm olarak asetaldehit miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Asetaldehit(ppm)} = [44 \cdot \text{Harcanan iyot(ml)} \cdot N \cdot 100] / \text{Örnek Miktarı(g)} \cdot 2 \quad (3.3)$$

N: Harcanan iyot çözeltisinin normalitesi

3.2.2. Salep çözeltisinin hazırlanması

Çözünürlük oranı yaklaşık %55 olan salepten, %2.0 salep glukomannan eldesi için %4.0'lük salep çözeltisi ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Çözelti manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında (25°C) 500 rpm hızında 2 h karıştırılmıştır. Süre sonunda çözelti içindeki suda çözünen glukomannan yapılı kısım 1500 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant elektroegirme çözeltisinin hazırlanmasında kullanılırken pellet 105±2°C'de 6-8 saat bekletilerek sabit tartıma gelmesi sağlanmıştır. Bu veriler kullanılarak salebin çözünürlük verimi Eş.3.4'e göre hesaplanmıştır (Kurt, 2018, 2019).

$$\text{Salep \%Çözünürlük} = [(\text{İlk Tartım} - \text{Son Tartım}) / \text{İlk Tartım}] \cdot 100 \quad (3.4)$$

3.2.3. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin hazırlanması ve fizikokimyasal özellikleri

Nanoenkapsülasyon çözeltisi; salebin çözünür Glukomannanı ve peyniraltı suyu protein izolatının (WPI, 90 g protein/100 g) farklı oranlarının karıştırılması ile elde edilmiştir. Salep Glukomannanı; %0.1-5.0, WPI ise %7.0-50.0 oranlarında karıştırılarak denemeler yapılmıştır. En uygun konsantrasyon oranları ise %2.0 salep Glukomannanı ve %40.0 WPI'da belirlenmiştir. Nanoenkapsülasyon çözeltisi; hazırlanan salep çözeltisinin üzerine %40 oranında WPI eklenerek 85-90°C'de 600 rpm de 30 dk ısıtma işlemine tabi tutularak oluşturulmuştur (Elbay ve ark., 2017). Çözelti hazırlamada ultra saf su kullanılmıştır.

3.2.3.1. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin elektriksel iletkenliği ve pH değeri

Nanoenkapsülasyon çözeltisinin elektriksel iletkenliği ve pH değeri kalibrasyonu yapılmış olan pH metre (WTW Multi 3420 SET G) ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümler oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) yapılmıştır.

3.2.3.2. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin viskozitesi

Nanoenkapsülasyon çözeltisinin viskozitesi Coghetto ve ark. (2016) tarafından uygulanan metoda göre Brookfield DV II+ viskozimetresi (Model DV II+Pro, Brookfield, MA 02346 USA, Manual No: M03-165-F0612) ile ölçülmüştür. Viskozimetre, 60 rpm hızında uygun spin (L03, tork %50) kullanılarak her 10s'deki 10 ölçüm sonucunun ortalaması alınarak değerlendirilmiştir. Viskozite birimi cP (centipoise) olarak verilmiştir. Ölçümler oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.3. Elektroeğirme uygulaması ve optimum koşulların sağlanması

Nanoenkapsülasyon materyalinin oluşturulmasında en uygun cihaz şartları; 11 kV yüksek güç uygulanmasıyla, 0.2 ml/h akış hızında ve iğne ile toplayıcı plaka arasındaki 12 cm uzaklık koşullarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Nanoenkapsüle starter kültürün fizikokimyasal özellikleri

Üretilen materyalin uygunluğunun belirlenmesi için bazı fizikokimyasal özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir (SEM, TEM, TGA ve FTIR)

3.2.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Nanoenkapsüle starter kültürün SEM (Taramalı Elektron Mikroskop, Zeiss Sigma 300, GEMINI®) analizi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim Uygulama ve Araştırma Merkezinde (BAUM) yaptırılmıştır.

3.2.4.2. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi

Nanoenkapsüle starter kültürün TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu, Hitachi HT-7700) analizi Erzurum Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DAYTAM) yaptırılmıştır.

3.2.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

Nanoenkapsüle starter kültürün, salebin ve WPI'nın FTIR analizleri Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvar Merkezinde (MERLAB) yapılmıştır. Çalışmada, FTIR (Thermo Scientific Nicolet IS10, ATR- FT-IR) cihazı kullanılmıştır.

3.2.4.4. Termo gravimetrik analizler (TGA)

Ramazani ve ark. (2019), tarafından kullanılan metodun küçük modifikasyonu ile TGA analizleri; nanoenkapsüle materyalden yaklaşık 15 mg alınarak oda sıcaklığından dakikada 10°C artırılarak 600°C'ye kadar nitrojen atmosferi altındaki ağırlık kaybı ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Cihaz (TG/DTG/DTA-DSC, SII Nanotechnology, EXSTAR 7300) kalibrasyonunda kalsiyum oksalat monohidrat kullanılmıştır.

3.2.4.5. Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilitesi

Nanoenkapsülenmiş starter kültürün canlılık stabilitesi Ceylan ve ark. (2019), tarafından yapılan metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Elektroeğirme çözeltisinin aktivasyonu gerçekleştirilen izolatlardan konsantrasyonu ayarlanarak inoküle edilmiştir. Homojen karışımı sağlanan çözeltiden 100 µl alınarak üzerine 900 µl steril saf su eklenerek seyreltilmiş ve dilüsyonlar hazırlanmıştır. Nanoenkapsüle edilen starter kültürden ise 250 mg alınarak 2.5 ml steril saf suda çözünerek gerekli dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her iki örnekten de 10^7 - 10^8 ve 10^9 dilüsyonları için uygun besiyerlerine ekimler yapılmış ve inkübasyon sonucunda petrilerdeki koloniler sayım yapılarak hesaplama Eş.3.7'ye göre değerlendirilmiştir (Abedfar ve ark., 2021).

$$\% \text{Canlılık (kob/ml)} = \text{Log} [(x*y*1000)/20] \quad (3.5)$$

X: Koloni sayısı

Y: Dilüsyon oranı

3.2.4.6. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi

Çanga (2020), tarafından kullanılan metodun küçük modifikasyonu ile, serbest nanoenkapsüle edilen starterden, pH 2.0 ve pH 2.5'e 0.1 N HCl ile ayarlanan 10 ml steril fizyolojik suya (%0.9) %1 oranında ekimler yapılarak 0-120-240 dk sonundaki canlılıkları petri sayım yöntemine göre yapılmıştır. Petri sayımında 30-300 kob/ml olan sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır (Feng ve ark., 2020; Abedfar ve ark., 2021).

3.2.4.7. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi

Çanga (2020), tarafından kullanılan metodun küçük modifikasyonu ile, nanoenkapsüle edilen starterden; %0.3 ve %0.5'lik kolik asit ilave edilmiş, pH 7.50'e ayarlanan 10 ml steril fizyolojik suya (%0.9) %1 oranında ekimler yapılarak 0-120-240 dk sonundaki canlılıkları petri sayım yöntemine göre yapılmıştır (Feng ve ark., 2020; Abedfar ve ark., 2021).

3.2.4.8. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısı ortamındaki canlılık stabilitesi

Çanga (2020), tarafından kullanılan metodun küçük modifikasyonu, %0.3 pepsin içeren 10 ml steril fizyolojik su (%0.9) ile pH değeri 2.0 olan mide sıvısı ortamı oluşturulmuştur. Simüle mide sıvısına nanoenkapsüle edilen starterden %1 oranında ekimler yapılarak 300 rpm'de 30 dk karıştırıldıktan sonra 0-120-240 dk sonundaki canlılıkları petri sayım yöntemine göre yapılmıştır (Feng ve ark., 2020; Abedfar ve ark., 2021).

3.2.4.9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi

Nanoenkapsüle starter kültür örnekleri başlangıç konsantrasyonları belirlenerek, 3 farklı ortamda (-20°C, +4°C ve 25°C) 0-2-4 ay süreyle depolanmıştır. Bu süreçteki canlılık tespiti Ceylan ve ark. (2018; 2019) tarafından kullanılan metoda göre değerlendirilmiştir.

3.2.5. Nanoenkapsüle starter kültürden yoğurt üretimi

Nanoenkapsüle edilen starter kültürün farklı oranlarıyla (%0.1-0.5-0.75-1.0-1.5 ve 2.0) yapılan yoğurt örneklerinin inkübasyon süreleri belirlenmeye çalışılmıştır. İçerisindeki bakteri yoğunluğu bilinen nanoenkapsüle kültür, yoğurt üretimi için ön işlemleri uygulanmış süte 6 farklı konsantrasyonda (%0.1-0.5-0.75-1.0-1.5 ve %2.0, v/v) inoküle edilmiştir. Inkübasyon süresi takibi, inkübasyonun 4. h'ten itibaren her 30 dk'da bir pH metre ile ölçüm yapılarak belirlenmiştir. Kontrol olarak enkapsülleme yapılmayan izolatlar 1/1 oranında %2.0 konsantrasyonda aynı süte ilave edilerek ölçümler yapılmıştır (Özer, 2006; Savran ve Halkman, 2017).

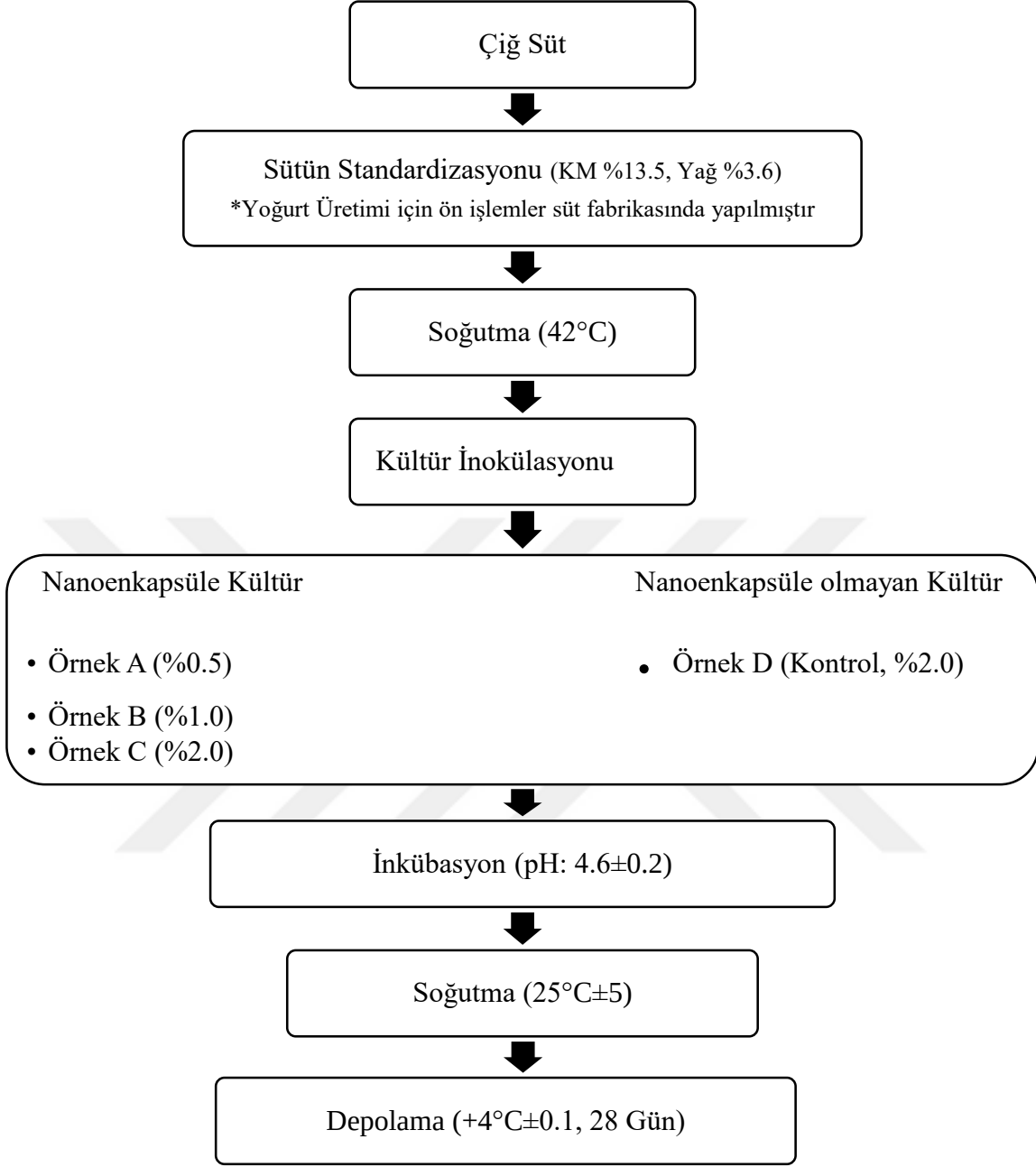
Bu çalışmadan 3 farklı konsantrasyonda (%0.5-1.0 ve %2.0) nanoenkapsüle kültür seçilerek son ürün çalışmasında kullanılmıştır.

Yoğurt yapımında kullanılan süt, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi içerisinde bulunan Sütkur firmasından temin edilmiştir. İşletmede sütün; pH değeri 6.65, yağ oranı %3.2 ve kuru madde oranı ise %13.5'e ayarlanmıştır. Uygun şartlarda Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Süt Teknolojisi Laboratuvarı'na

getirilen süt, 42-45 °C'ye soğutularak 4 eşit miktara bölünmüş ve nanoenkapsüle kültürden hacimce %0.5 (A)- %1.0 (B) ve %2.0 (C) oranında inoküle edilmiştir. Kontrol örneği olarak da; enkapsülasyon işlemi uygulanmayan izolatların, 1/1 oranında hacimce %2.0 (D) konsantrasyonda inokülasyonu ile elde edilen yoğurt örneği kullanılmıştır. Her bir grup kendi içerisinde 50 ml'lik steril kaplara doldurularak 2'şer paralel olacak şekilde 42 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon pH 4.6-4.65 aralığında sonlandırılmış ve örnekler oda sıcaklığında (25°C) 30 dk bekletildikten sonra +4°C'de depolanmıştır. Yoğurt üretim diyagramı Şekil 3.1'de gösterilmektedir (Ayar ve Gurlin, 2014).

Üretilen yoğurtların depolamanın 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analizleri gerçekleştirilmiştir.





Şekil 3.1. Yoğurt üretim diyagramı.

3.2.5.1. Üretilen yoğurtların fizikokimyasal özellikleri

3.2.5.1.1. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri

Yoğurt örneklerinde kuru madde analizi, sabit tartıma getirilmiş porselen krozelere yaklaşık 2.5 – 3.0 gr numune tartılarak kurutma dolabında $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 3 – 4 h bekletilerek sabit tartıma gelmesi sağlanmıştır. Soğutma işlemi tekrar nem almaması için desikatörde yapılmıştır. Yapılan tartımlardan örneklerdeki %kuru madde miktarı Eş.3.8'e göre hesaplanmıştır (Akalın, 2011; Çakmak, 2019).

$$\% \text{Kuru Madde} = [(\text{ilk tartım} - \text{Son tartım}) / \text{ilk tartım}] * 100 \quad (3.6)$$

Yoğurt örneklerinde kül değeri, kül fırınında yakma sonucunda gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Sabit tartıma getirilen kroze kaplarına 10 gr örneğin tartılarak etüvde 1-2 h kurutulduktan sonra kül fırınında $550 \pm 15^\circ\text{C}$ ' de yakılması ile sağlanmıştır. Soğutma işlemi tekrar nem almaması için desikatörde yapılmıştır. Geriye kalan kül miktarı %kül oranı olarak Eş.3.9'a göre hesaplanmıştır (Albay, 2012; Çakmak, 2019).

$$\% \text{Kül Miktarı} = [(\text{ilk tartım} - \text{Son tartım}) / \text{ilk tartım}] * 100 \quad (3.7)$$

Üretilen yoğurtların 1.-7.-14.-21. ve 28. günlerinde fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler analiz edilmiştir.

3.2.5.1.2. Yoğurt örneklerinin pH ve asitlik (%Laktik asit) değeri

Üretilen yoğurt örnekleri oda sıcaklığında bir süre bekletilerek sıcaklığın dengelenmesi sağlanmıştır. Numune iyice karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra 10 gr tartılarak üzerine 10 ml ultra saf su konmuştur. Tekrar iyice karıştırıldıktan sonra kalibre edilmiş pH metre ile okuma yapılmıştır (Metin ve Öztürk, 2010).

Titrasyon asitliği potansiyometrik olarak belirlenmiştir. pH'sı ölçülen numune, 0.1 N sodyumhidroksil (NaOH) ile pH 8.30 olana kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH'in ml olarak değeri kaydedilmiştir. 100 gr numunedeki %Laktik asit değeri Eş.3.10'a göre hesaplanmıştır (Metin ve Öztürk, 2010).

$$\% \text{Laktik Asit} = [(\text{Harcanan } 0.1 \text{ N NaOH (ml)} * 0.009) / \text{Örnek miktarı (gr)}] * 100 \quad (3.8)$$

V: Harcanan 0.1N NaOH'in miktarı (ml)

N: NaOH'in normalitesi (0.1N)

m: Analiz edilen numunenin hacmi (ml)

NaOH'in asitlik değeri (0.009)

3.2.5.1.3. Yoğurt örneklerinde su tutma kapasitesi

Yoğurt örneklerinden 2 gr numune ependorf tüpüne tartılarak 14000 g hızda +4°C'de 30 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant atılarak kalan kısım tartılmıştır. %su tutma kapasitesi Eş.3.11'e göre hesaplanmıştır (Tunçtürk ve ark., 2000).

$$\% \text{Su Tutma Kapasitesi} = [(1 - \text{pellet ağırlığı} / \text{ilk tartım ağırlığı}) * 100] \quad (3.9)$$

3.2.5.1.4. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması tayini

Yoğurt örneklerinden 20 gr tartılarak 250 g hızda +4°C'de 10 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda ayrılan serum kısmı (süpernatant) volumetrik olarak ölçülmüş ve sonuç serum ayrılması (sinerezis) %ml/100g şeklinde ifade edilmiştir (Ramirez-Sucre ve Velez-Ruiz, 2013).

3.2.5.1.5. Yoğurt örneklerinin viskozite tayini

Yoğurt örneklerinin viskozite tayini, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde bulunan programlanabilir reometre (Brookfield DV-III Ultra, MA, USA) ile ölçülmüştür. Yoğurt örneklerinin viskozitesi, +4°C'de saklanan numuneler oda sıcaklığına ulaştıktan sonra homojen olması için 20 tur karıştırılmıştır. Homojen hale geldikten sonra yoğurt örnekleri reometrede, 20 rpm hızla dönen spin C (Helipath Spindle Set, MA 02345 USA) probu yardımıyla 10 sn'lik ölçüm sonucunda verilen değerlerin ortalaması alınarak sonuç cP (centipoise) birimiyle verilmiştir (Bulut, 2020; Ayaz, 2021).

3.2.5.1.6. Yoğurt örneklerinin tekstür profil analizi (TPA)

Yoğurt örneklerinin tekstür profil analizi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde bulunan TPA cihazıyla yapılmıştır. Örneklerde sertlik, yüzey yapışkanlığı, iç yapışkanlık, sakızimsılık ve esneklik değerleri belirlenmiştir. Ölçümlerde silindirik probe (25.4 mm) kullanılmıştır. Analizde 4mm'lik ve 0.5 mm/s hızla iki penetrasyon yapılmıştır (Ayar ve Gurlin, 2014; Bulut, 2020; Ayaz, 2021).

3.2.5.1.7. Yoğurt örneklerinin uçucu aroma profilinin belirlenmesi

Yoğurt örneklerinin aroma profili, Çakmak (2019) ve Bulut (2020) tarafından uygulanan metotlar modifiye edilerek belirlenmiştir. Aroma bileşenleri, Headspace (Teledyne Tekmar HT3) autosampler ve Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrosu (GCMS, QP2010 plus) ile katı faz mikroekstraksiyon tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada iç standart olarak 2-Octanol (Acros organics) kullanılmıştır. Stok çözeltisi olarak 10 mg tartılarak 10 ml deiyonize saf suda çözündürüldükten sonra -18°C'de saklanmıştır. Numune hazırlıkta kısmında, -80°C'de bekleyen yoğurt örneklerinden oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra 4.0 ± 0.001 g hassasiyette 20 ml'lik headspace viallerine tartımlar yapılmıştır. Her bir örneğin üzerine internal stok çözeltisinden 10 µl eklenerek kapakları kapatılmıştır.

Örnekler headspace autosamplerin loop metodunda dengelenmesi sağlanmıştır. Loop metot çalışma koşulları; G.C. Cycle Time 30 dk, Valve Oven Temp. 60°C, Transfer Line Temp. 60°C, Standby Flow Rate 50ml/dk, Sampler Temp. 40°C, Sampler Equil. Time 20 dk ve inject time 5 dk'lık program uygulanmıştır.

GCMS cihazında, Rtx-1301 30*0.25*0.25 (RESTEK, 16023, USA) kolon kullanılmıştır. Split oranı 1:10, Ion Source Temp 200°C, enjeksiyon hacmi 1 µl, taşıyıcı gaz helyum ve akış hızı 3ml/dk olan cihazda GC sıcaklık programı; 37°C'de 5 dk bekleme, 4°C/dk artış ile 85°C'ye çıkma ve 5 dk bekleme, 7°C/dk ile 180°C'ye çıkma ve 2 dk bekleme, 10°C/dk ile 230°C'ye çıkma ve burada 18 dk bekleme sonucunda elde edilen kromatogram verileri NİST ve WLEY7 kütüphanesinde taranarak sonuçlar Eş.3.12'ye göre hesaplanmıştır. MS'de 35-500 m/z kütle aralığı taranmıştır.

$$\text{Aroma bileşen miktarı (mg/kg)} = (A/B) * C \quad (3.10)$$

A: İnternal Std miktarı

B: internal Std pik alanı

C: Aroma bileşeni pik alanı

3.2.5.2. Üretilen yoğurtların mikrobiyolojik analizleri

Üretilen yoğurtlarda; *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, maya-küf ve Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMBS) sayımı yapılmıştır. Yoğurt numunelerinden 10 gr örnekler alınarak 90 ml %0.85'lik NaCl ile seyreltilerek 10^8 - 10^{11} 'lere kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu dilüsyonlardan; *Lactobacillus bulgaricus* için MRS Agara (42 °C) ve *Streptococcus thermophilus* için M17 Agara (37 °C), TAMBS için PCA'ya (30 °C) ve maya küf için ise steril %10'luk laktik asit ile pH 3.5'e düşürülen PDA'ya (25 °C) ekim yapılarak inkübasyon sonrası petri kutularındaki 30-300 arasında koloni sayıları belirlenmiştir (Korkmaz, 2011; Çakmak, 2019; Bulut, 2021).

3.2.5.3. Üretilen yoğurtların duyuşal değerdendirilmesi

Üretilen yoğurt örneklerinin duyuşal değerdendirilmesi, 6 kişilik bir grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Değerdendirmede; genel görünüş, kıvam, yoğurt kokusu ve tat algıları 1-5 arasında puanlama ile değerdendirilmiştir. Farklı yoğurt örnekleri arasında kişilere su verilerek önceki tat uzaklaştırılmıştır. Ayrıca hangi örneğı kabul edilebilir bir yoğurt olarak tüketmeye devam edebileceğı de 1-5 arasında puanlamayla değerdendirmesi istenmiştir (Delikanlı, 2012; Çakmak, 2019; Bulut, 2021).

3.2.6. İstatistiksel değerdendirme

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçların değerdendirmesinde Windows için IBM SPSS Statistics (version 26.0 for Windows, New York, ABD) paket programı kullanılmıştır. Grup ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiştir. Farklılığın önem derecesi Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yapılan tüm testler iki veya üç paralelli gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama standart sapma $\pm$ SD olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda; temin edilen izolatların yoğurt starter kültürü olabilme potansiyelinin araştırılması, peyniraltı suyu protein izolatı ve çözünür salep glukomannanı ile oluşturulan çözeltinin fizikokimyasal özellikleri, seçilen izolat kombinasyonunun elektroğrilmesiyle oluşturulan nanoenkapsüllerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, nanoenkapsüllenen starter ile yapılan yoğurdun fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal analiz sonuçlarının değerlendirilmesi şekil ve çizelge şeklinde aşağıda sunulmuştur.

4.1. İzolatların Yoğurt Starter Kültür Olabilme Potansiyelini Belirleyen Analizler

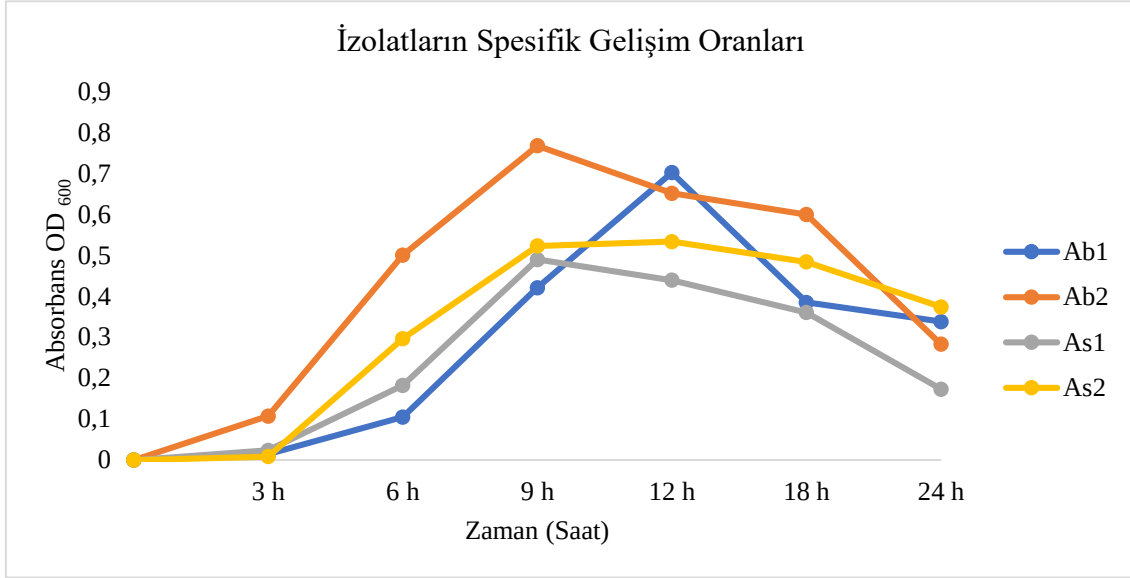
İzolatların yoğurt starter kültür olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesi için; spesifik gelişim oranları, pH değişimi, %laktik asit üretimi, proteolitik aktivite ve aroma oluşturma profili gibi özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. İzolatların aktivasyonu metot kısmında açıklandığı yönteme göre gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi

Çizelge 4.1. İzolatların spesifik gelişim oranlarının belirlenmesi

İzolat Kodları	İnkübasyon Süresi(Saat)					
	3	6	9	12	18	24
Spesifik Gelişim Oranları(μ , g/1)						
Ab1	0.015 $\pm$ 0.001	0.105 $\pm$ 0.001	0.421 $\pm$ 0.002	0.702 $\pm$ 0.008	0.385 $\pm$ 0.002	0.338 $\pm$ 0.003
Ab2	0.107 $\pm$ 0.002	0.501 $\pm$ 0.008	0.768 $\pm$ 0.002	0.652 $\pm$ 0.001	0.599 $\pm$ 0.001	0.283 $\pm$ 0.001
As1	0.024 $\pm$ 0.000	0.182 $\pm$ 0.002	0.490 $\pm$ 0.003	0.439 $\pm$ 0.006	0.560 $\pm$ 0.017	0.173 $\pm$ 0.002
As2	0.008 $\pm$ 0.001	0.297 $\pm$ 0.001	0.523 $\pm$ 0.004	0.533 $\pm$ 0.005	0.284 $\pm$ 0.002	0.374 $\pm$ 0.004

* OD₆₀₀ Absorbans 0.08-0.1 değeri yaklaşık 1.5*10⁸ kob/ml



Şekil 4. 1. İzolatların, farklı zaman aralıklarında spesifik gelişim oranlarındaki değişim.

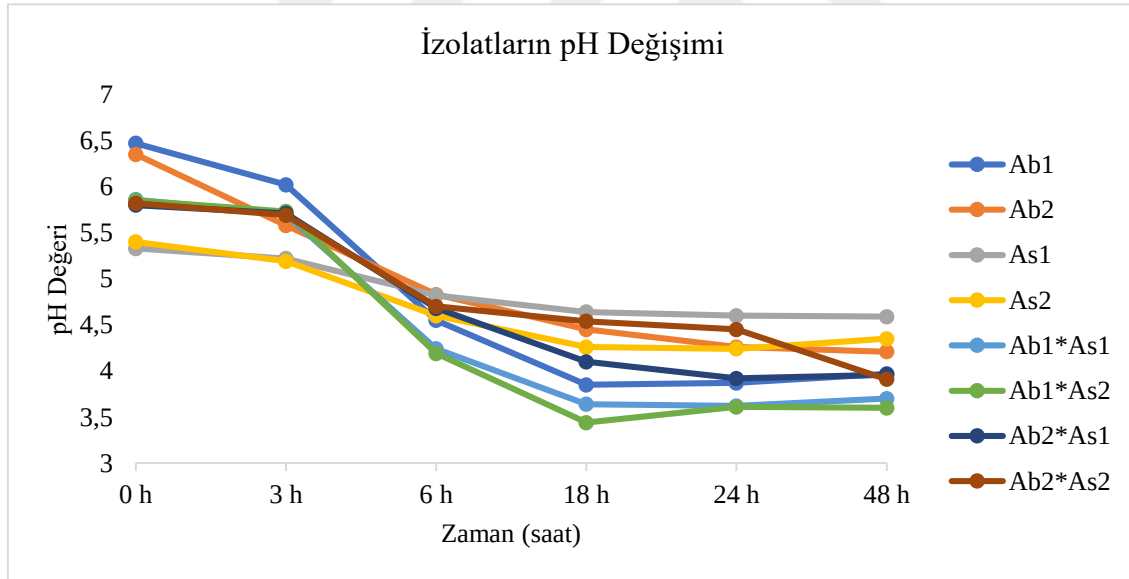
Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 incelendiğinde izolatların spesifik gelişim oranlarında; Ab1 en yüksek log fazına 12 h'te ulaşırken Ab2 9 h'te ulaşmıştır. As1 en yüksek log fazına 9 h'te ulaşırken As2 ise 12 h'te ulaştığı görülmektedir.

Bu iki yoğurt bakterisinin aynı ortamda simbiyotik ilişkisinin olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. *Str. thermophilus*, süt ortamındaki faaliyetleriyle formik asit ve karbondioksit üreterek ortamın pH'sını düşürmektedir. Düşük pH da *Lb. bulgaricus*'un gelişiminin daha iyi olduğu ifade edilmiştir. *Lb. bulgaricus*, hücre duvarındaki proteazlarla kazein fraksiyonlarından, *Str. thermophilus*'un gelişimi için elzem olan aminoasitleri (valin, lösin, lisin, glisin, aspartik asit ve histidin) sentezleyerek simbiyotik yaşamı desteklediği bildirilmiştir (Metin, 2005; Koçak, 2016; Uzunsoy, 2018).

4.1.2. İzolatların pH değişimi ve %Laktik asit üretim potansiyeli

Çizelge 4.2. İzolatların inkübasyon süresince pH değişimi

İzolatlar Kodları	İnkübasyon Süresi (Saat)					
	0	3	6	18	24	48
	pH değişimi					
Ab1	6.47±0.02	6.02±0.01	4.55±0.28	3.85±0.01	3.87±0.02	3.97±0.01
Ab2	6.35±0.03	5.58±0.02	4.83±0.03	4.45±0.03	4.26±0.03	4.21±0.02
As1	5.33±0.03	5.22±0.03	4.82±0.04	4.64±0.03	4.60±0.02	4.59±0.04
As2	5.40±0.05	5.19±0.03	4.60±0.01	4.26±0.02	4.24±0.02	4.35±0.03
Ab1*As1	5.86±0.03	5.70±0.05	4.24±0.02	3.64±0.04	3.62±0.03	3.70±0.02
Ab1*As2	5.85±0.03	5.73±0.03	4.19±0.01	3.44±0.02	3.61±0.03	3.60±0.05
Ab2*As1	5.80±0.05	5.71±0.03	4.68±0.03	4.10±0.02	3.92±0.02	3.96±0.00
Ab2*As2	5.82±0.02	5.69±0.05	4.70±0.05	4.54±0.04	4.45±0.03	3.91±0.01



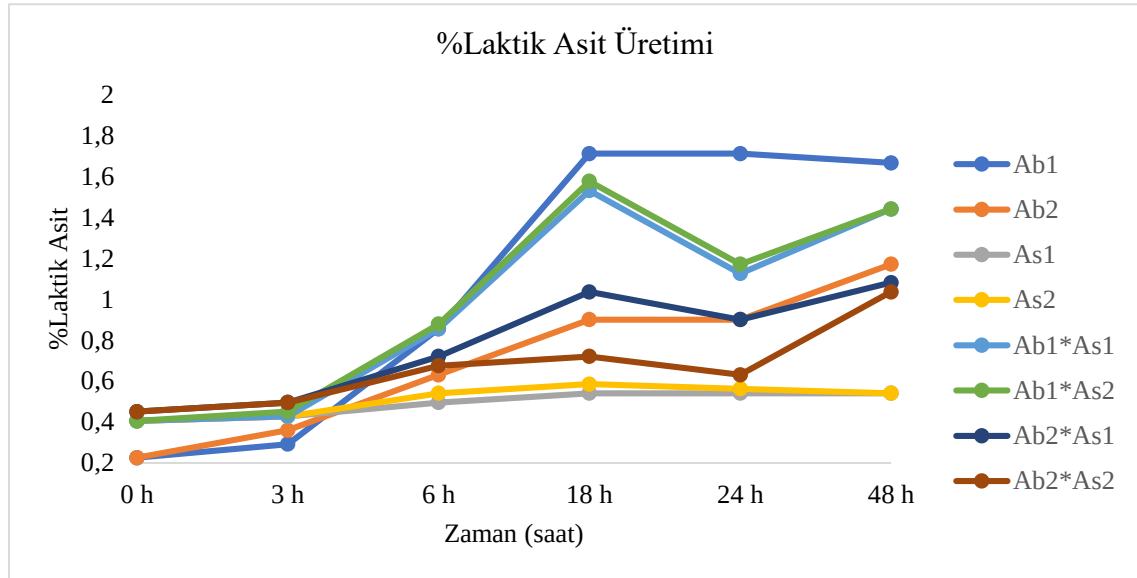
Şekil 4. 2. İzolatların farklı sürelerde inkübasyon sırasındaki pH değişimi.

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 incelendiğinde izolatların farklı sürelerde inkübasyon boyunca pH değişimi; Ab1 ve Ab2 izolatlarında 6.47-3.85 aralığında iken As1 ve As2 izolatlarında 5.40-4.24 aralığında tespit edilmiştir. Kombine izolatların pH değişim ise 5.86-3.44 aralığında belirlenmiştir. Yoğurt kültüründen, sütün pH'sını en kısa sürede 4.60'ın altına düşürerek inkübasyonun bitirilmesi istenmektedir (Metin, 2005). Ab1 ve

As2 izolatu 6 h'te pH'yı 4.60'ın altına indirirken kombine izolatlardan **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** kombinasyonları, daha kısa sürede pH'yı 4.60'ın altına düşürebilmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** kombinasyonlarının yoğurt kültürü olarak kullanılma potansiyeline daha elverişli olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.3. İzolatların inkübasyon süresince %Laktik asit üretimi

İzolatlar Kodları	İnkübasyon Süresi (Saat)					
	0	3	6	18	24	48
Ab1	0.225±0.02	0.292±0.01	0.855±0.03	1.710±0.05	1.710±0.01	1.665±0.00
Ab2	0.225±0.01	0.360±0.02	0.630±0.04	0.900±0.04	0.900±0.04	1.170±0.05
As1	0.405±0.03	0.428±0.02	0.495±0.05	0.540±0.03	0.540±0.03	0.540±0.06
As2	0.405±0.04	0.428±0.02	0.540±0.06	0.585±0.03	0.562±0.03	0.540±0.05
Ab1*As1	0.405±0.00	0.428±0.01	0.855±0.02	1.530±0.01	1.125±0.01	1.440±0.04
Ab1*As2	0.405±0.01	0.450±0.05	0.878±0.01	1.575±0.01	1.170±0.02	1.440±0.03
Ab2*As1	0.450±0.02	0.495±0.04	0.720±0.01	1.035±0.02	0.900±0.05	1.080±0.01
Ab2*As2	0.450±0.04	0.495±0.01	0.675±0.04	0.720±0.02	0.630±0.01	1.035±0.04



Şekil 4. 3. izolatların, inkübasyon boyunca %Laktik asit üretim değerlerindeki değişim.

Yoğurt üretimi amacıyla starter kültür seçiminde asitlik gelişimi önemli bir parametredir. Asitliğin yavaş gelişmesi serum ayrılmasını artırırken sonradan veya çok

hızlı gelişmesi de kalite kusurlarına (ekşimsi tat) sebep olmaktadır. Ayrıca asitliğin yavaş gelişerek inkübasyon süresinin uzaması ekonomik kayıpları da artırmaktadır (Uzunsoy, 2018).

Çalışmamızda, izolatların laktik asit üretim değerleri Çizelge 4.3'te ve grafiksel değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; Ab1 ve Ab2 izolatlarının laktik asit üretim değerleri %0.225-1.710 aralığında olup en yüksek laktik asit üretim değerine 18 h'de ulaştığı görülmektedir. Ab1 izolatının laktik asit üretimi Ab2 izolatına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. As1 ve As2 izolatlarının laktik asit üretim değerleri %0.405-0.585 aralığında olup en yüksek laktik asit üretim değerine 18 h'de ulaştığı görülmektedir. As2 izolatının laktik asit üretimi As1 izolatına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kombine izolatlarda ise laktik asit üretim değerleri %0.405-1.575 aralığında ölçülmüş olup en yüksek laktik asit üretim değerine 18 h'de ulaşılmıştır. En yüksek laktik asit üretim değerlerini **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** kombinasyonları gösterirken Ab2*As2 kombinasyonu en düşük laktik asit üretimini gerçekleştirmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne göre yoğurdun laktik asit değerleri %0.6-1.5 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (TGK, 2009). Daha önce yapılan çalışmalarda, yöresel yoğurt örneklerinin pH ve %laktik asit üretim değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir (Güngör ve ark., 2020).

Çizelge 4.4. Yöresel ürünlerin pH ve %Laktik asit değerleri

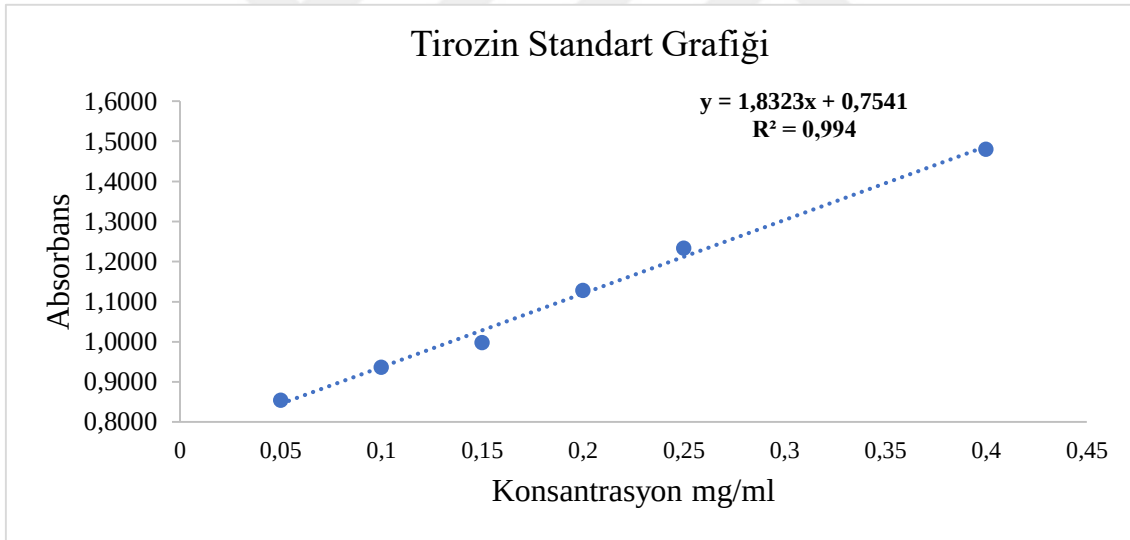
Örneklerin Toplandığı İller	pH Değeri	%Laktik Asit Değeri	Referanslar
Şanlıurfa	3.31-4.16	0.98-1.56	Türkoğlu ve ark, (2003)
Ankara	-	0.78-1.57	Koçhisarlı ve Ergül, (1987)
Burdur	3.27-3.86	0.93-1.17	Kırdar ve Gün, (2001)
Isparta	3.92-4.22	-	Okur, (2005)
Konya	3.78-4.48	0.88-2.15	Öz, (1990)

Genel olarak yöresel ürünlerde de görüldüğü gibi Türk halkının, ticari yoğurtlara göre biraz daha asidik yöresel ürünler ürettiği ve tükettiği görülmektedir. Bu yüzden

çalışmamızda, **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** kombinasyonlarının yoğurt kültürü olarak kullanılma potansiyeline daha uygun olduğu düşünülmektedir.

4.1.3. İzolatların proteolitik aktivite potansiyeli

Yoğurtta aroma maddelerinin oluşması kültür izolatlarının proteolitik aktivite düzeyleriyle doğrudan ilişkilidir. *Lactobacillus bulgaricus* yoğurt proteinini proteinaz enzimiyle peptitlere, *Streptococcus thermophilus* da peptidaz enzimiyle peptitleri asetaldehitin öncü maddesi olan treonine dönüştürmektedir. Treonin *Lb.bulgaricus*'un aldolaz enzimiyle asetaldehit ve glisine dönüşmektedir (Şenol ve Ocak, 2014). Gerçekleşen proteoliz sonucu açığa çıkan aminoasitlerin miktarı ortamdaki tirozin aminoasitinin varlığı esas alınarak hesaplanmaktadır (Çayır, 2007). Tirozin standart grafiği Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

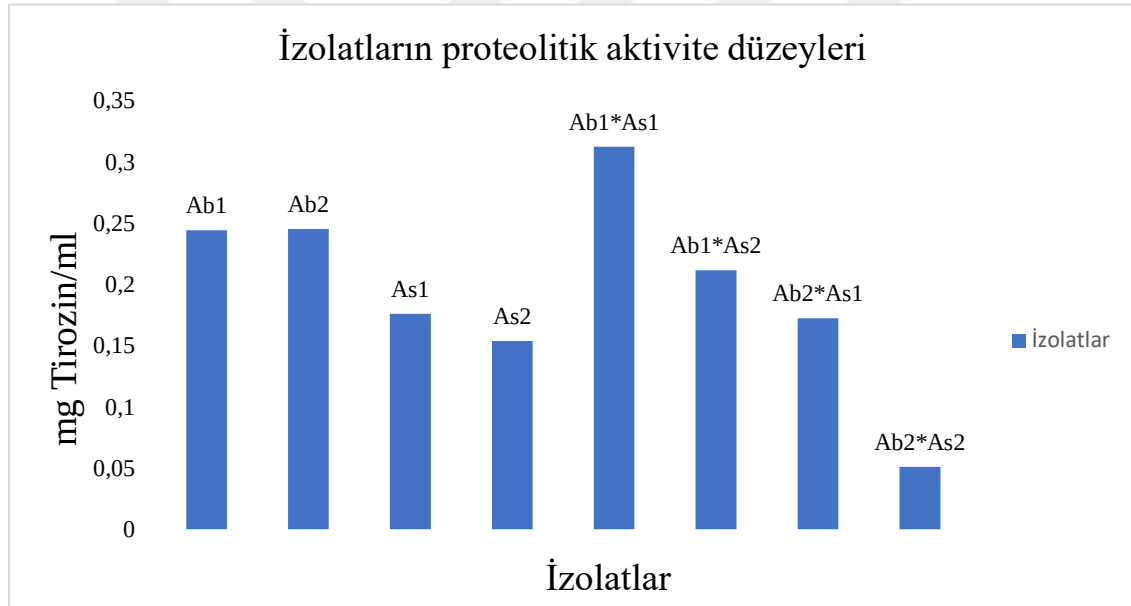


Şekil 4. 4. Tirozin standart grafiği.

İzolatların proteolitik aktivite düzeyleri, tirozin standart grafiğinden hesaplanarak mg tirozin/ml olarak Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. İzolatların proteolitik aktivite potansiyel değerleri

İzolatlar Kodları	mg Tirozin/ml
Ab1	0.244±0.01
Ab2	0.245±0.03
As1	0.176±0.02
As2	0.154±0.04
Ab1*As1	0.313±0.02
Ab1*As2	0.212±0.02
Ab2*As1	0.172±0.01
Ab2*As2	0.051±0.05



Şekil 4. 5. İzolatların proteolitik aktivite düzeyleri.

İzolatların proteolitik aktivite düzeyleri Şekil 4.5'te sunulmuştur. Ab1 ve Ab2 izolatlarının yaklaşık aynı oranda proteolitik aktivite gösterirken, As1 ve As2 izolatları daha düşük proteolitik aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Kombine kültürlerde ise en yüksek proteolitik aktivite düzeyi Ab1*As1 kombinasyonunda görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda; *Lb. bulgaricus* 0.07-1.25 mg tirozin/ml proteolitik aktivite gösterirken, *Str. thermophilus* 0.02-0.30 mg tirozin/ml düzeyinde proteolitik aktivite de bulunmuştur. Güzel-Seydim ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmaya göre yoğurttaki tirozin miktarının 0.5 mg tirozin/ml'yi geçmesi durumunda acılaştırmanın olabileceği ileri

sürülmüştür. Ayrıca yüksek proteolitik aktiviteye sahip kültürlerin kullanımı, yoğurdun depolama sırasında sinesizini de artırdığı ifade edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan izolatlardan *Lb. bulgaricus*'un proteolitik aktivitesinin *Str. thermophilus*'tan yüksek olması, kombine kültür aktivitelerinin 0.5 mg tirozin /ml'yi geçmemesi literatür ile örtüşmektedir. Bu sonuçlara göre yoğurt starter kültür olabilmeye en uygun kombinasyonun **Ab1*As1** ve **Ab1*As2** olduğu belirlenmiştir.

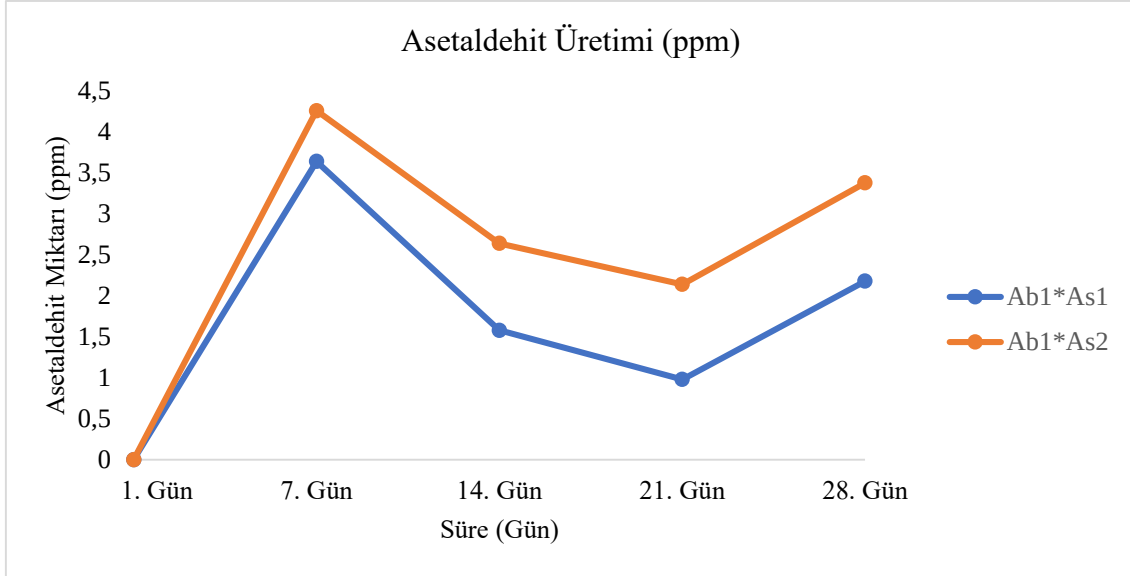
4.1.4. Seçilen izolat kombinasyonlarıyla yapılan yoğurtların aroma profilinin belirlenmesi

Yoğurt bakterileri; karbonhidrat, protein ve nükleik asitlerden farklı metabolik yollar kullanarak yoğurdun kendine özgü karakteristik tat ve aromasını oluşturan asetaldehiti üretebilmektedirler. Asetaldehitin miktarı yoğurdun bir kalite faktörü olarak bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda yoğurt karakteristik tat ve aromasının oluşması için asetaldehit miktarının 2.5-50 ppm arasında olması gerektiği ifade edilmiştir (Çayır, 2007; Köse ve Ocak, 2014).

Seçilen izolat kombinasyonlarıyla metotta belirtilen yöntemle üretilen yoğurt örnekleri, dört hafta boyunca +4°C'de buzdolabında depolanarak iyodometrik yöntemle asetaldehit üretim miktarları bulunmuştur. Asetaldehit üretim değerleri Çizelge 4.6'da sunulurken verilerdeki değişim Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Sonuçlara göre **Ab1*As2** kombinasyonunun asetaldehit üretim potansiyeli **Ab1*As1** kombinasyonundan daha yüksek bulunmuştur. Her iki kombinasyon da asetaldehit üretim miktarı 7. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Sonraki azalma ve artma dalgalanmasının asetaldehitin asetat ve etanole dönüşmüş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.6. İzolatların iyodometrik yöntemle asetaldehit üretim değerleri (ppm)

İzolat Kodları	İnkübasyon Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
Asetaldehit Üretim Değerleri (ppm)					
Ab1*As1	-	3.64±0.09	1.58±0.08	0.98±0.03	2.18±0.03
Ab1*As2	-	4.26±0.05	2.64±0.01	2.14±0.03	3.38±0.08



Şekil 4. 6. İzolatların iyodometrik yöntemle asetaldehit üretimi.

İzolat veya izolat kombinasyonlarının yoğurt starter kültür olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesinde yapılan ön çalışma sonuçlarına ve sonuçların literatürle karşılaştırılmasına bağlı olarak, yoğurt starter kültür olarak kullanılma potansiyeline en uygun kombinasyonun **Ab1*As2** olabileceği kanısına varılmıştır. Bu doğrultuda nanoenkapsülasyon uygulaması ve sonraki bütün çalışmalar **Ab1*As2** kombinasyonu üzerinden devam etmiştir.

4.2. Salebin Çözünürlük Veriminin Hesaplanması

Salebin suda çözünürlüğü materyal metot kısmında anlatılan şekliyle yapılmış olup yöntemde verilen formülle hesaplanarak salebin suda çözünürlüğü %55.59 olarak belirlenmiştir.

Bulut-Solak ve ark. (2017), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Konya'dan toplanan *Orchis anatolica* türüne ait bitkilerin yumrularından salep elde edilmiş ve örneğin kompozisyonu ile reolojik özellikleri incelenmiştir. Örneklerin nişasta ve glukomannan içerikleri sırasıyla %4.58-43.98 ve %7.84-48.54 olarak bulunmuştur. Salebin bileşimi toplandığı döneme ve bölgeye göre karakteristik özellikler göstermekte olup salep tozu bileşimi genel olarak; müsilağ (%6-61), nişasta (%0.6-36), indirgen şeker (%0.4-4,5), indirgen olmayan şeker (%0.1-2.3), toplam azotlu madde (%0.4-1.2), su (%6-

12) ve kül (%0.2-9) olarak belirlenmiştir. En önemli bileşenini suda çözünebilen doğal lif yapısındaki glukomannan oluşturmaktadır (Usta, 2015). Çalışma sonucumuz, literatür ile karşılaştırıldığında suda çözünen salep kısmının büyük çoğunluğunun glukomannan olduğu düşünülmektedir.

4.3. Nanoenkapsülasyon Çözeltilisinin Fizikokimyasal Özellikleri

Nanoenkapsülasyon çözeltinin enkapsülasyon materyali olarak uygunluğunun belirlenmesi için bazı fizikokimyasal analizlerinin (pH, elektriksel iletkenlik ve viskozite) yapılması gerekmektedir. Bu parametreler nano yapıların morfolojisini ve elektroegirme koşullarını değiştirebilmektedir.

Çalışmamızda; nanoenkapsülasyonun gerçekleştirildiği çözeltisinin; 25°C'deki pH, elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin fizikokimyasal özellikleri

Nanoenkapsülasyon çözeltisinin fizikokimyasal özellikleri		
pH Değeri	Elektriksel İletkenlik (mS/cm)	Viskozite (25°C cP)
5.34±0.01	4.87±0.025	28.12±0.16

Nayak ve ark. (2013), tarafından elektriksel iltkenliğin nanolif ve nano yapının çapına etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda elektriksel iltkenliğin anahtar bir rol oynadığı ifade edilmiştir. Örneği sodyum oleatın elektroegirme çözeltisine eklenmesi nano lifin çapını artırırken elektriksel iltkenliğin de artmasına sebep olmuştur.

Kutzli ve ark. (2018) tarafından, patates ve mısır nişastasından elde edilen maltodekstrin ile WPI farklı oranlarda karıştırılarak nanoenkapsülasyon materyali üretim çalışması gerçekleştirilmiştir. Nanoenkapsülasyon çözeltisinin; elektriksel iletkenliği ve çözeltideki madde oranlarının elektroegirilebilme üzerine etkisi araştırılmıştır. WPI ve maltodekstrinler tek başına eğrilmiştir. Patates nişastasından elde edilen maltodekstrin ile WPI'nın karıştırılan her oranı (%5-20) elektroegirilirken mısır nişastasından elde edilen maltodekstrinden sadece %5 WPI ilaveli çözelti elektroegirilebilmiştir. Diğer taraftan sadece mısır nişastasından elde edilen maltodekstrin çözeltisi ve patates nişastasından

elde edilen maltodekstrin %80, WPI %20 olan çözeltisinin elektriksel iletkenliği 0.46 (mS/cm) olmasına rağmen yalnız ikinci çözelti elektroëğrilebilmiştir. Patates nışaştasından elde edilen maltodekstrin ile WPI'dan oluşturulan çözeltilerin elektriksel iletkenliği 0.31-0.46 (mS/cm) aralığında iken elektroëğrilirken aynı oranlara sahip mısırs nışaştasından elde edilen maltodekstrin ile WPI çözeltisinden sadece maltodekstrin %95 oranında kullanılan çözelti (elektriksel iletkenliği 0.49 (mS/cm)) elektroëğrilebilmiştir. Bu çalışma sonucuna göre elektriksel iletkenliğin tek başına elektroëğrilebilmeyi sağlayamadığı görölmektedir.

Yukarıdaki verilen çalışma sonuçlarında göröleceğı üzere kullanılan materyallerin elektroëğirme çözeltisinin parametreleri üzerinde etkili olabileceğı ortaya konulmuştur. Bu bazı çalışmalarda viskozite artışının elektriksel iletkenlik ile ters ilişkili olduğı ifade edilirken bazı çalışmalarda da bunun tam tersi şeklinde tanımlanmıştı. Bizim çalışmamızdaki amaç; kullanılan elektroëğirme çözeltisinin pH, elektriksel iletkenlik ve viskozite açısından tanımlanmıştıydı. Bu noktada %40 WPI, %2 Glukomannan ve ultra safsudana oluşana elektroëğirme çözeltisinin değerleri sırasıyla; 5.34 ± 0.01 , 4.87 ± 0.025 ve 28.12 ± 0.16 olarak verilmiştir. WPI ve pullulan kullanılan bir çalışmada elektriksel iletkenlik değerleri (0.35-1.48 mS/cm) arasında bulunurken viskozite değerleri (3.67-0.06 Pa.s) arasında bulunmuştur (Drosou ve ark.,2018). Hökelekli (2021), tarafından WPI ve inülinin farklı oranlarda kombinasyonuyla oluşturulan enkapsülasyon materyalinin fizikokimyasal özelliklerinde; elektriksel iletkenlik 10.37-12.30 $\mu\text{S/cm}$ aralığında iken viskozite değeri 14.03-24.55 cP aralığında değişim göstermiştir. WPI'nın konsantrasyonu arttıkça elektriksel iletkenlik artarken inülinin konsantrasyonu arttıkça viskozite değerlerinde azalış gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Ramazani ve ark. (2019)'da WPI ve guar gamının farklı oranlarını kullanarak elektroëğirme çözeltisi hazırlamışlardır. Bu çözeltinin pH değeri 3.5, viskozitesi 42 mPa.s ve elektriksel iletkenliği 0.98 mS/cm olduğunu bulunmuştur. pH, çözeltideki maddelerinin çözünürlüğünü etkilediğı ve çözünürlüğünde viskozite ile elektriksel iletkenlik değerlerinde değişime sebep olduğı ifade edilmiştir. pH'nın dolaylı yoldan nanolif morfolojisine etkisinin olduğu vurgulanmıştır.

Yapılan çalışmalar doğrultusunda elektroëğirme çözeltisinin fizikokimyasal özellikleri, üretilen nano yapıların morfolojik özelliğini etkilemektedir. Ancak kullanılan maddelerin cinsi ve karışım oranları değiştğinde aynı fizikokimyasal özellik

göstermesine rağmen aynı morfolojik nano yapılar oluşmamaktadır. Yapılan akademik çalışmamalarda da böyle bir bilgi bulunmamaktadır.

Çalışmamızda da çözeltinin fizikokimyasal özellikleri, SEM analiz sonucunda nanoenkapsülasyonun gerçekleştiği düşünülen formulasyon çözeltisi için kayıt altına alınmış ve sonraki yapılan çözeltilerde de aynı olmasına dikkat edilmiştir.

4.4. Nanoenkapsüle Starter Kültürün Fizikokimyasal Özellikleri

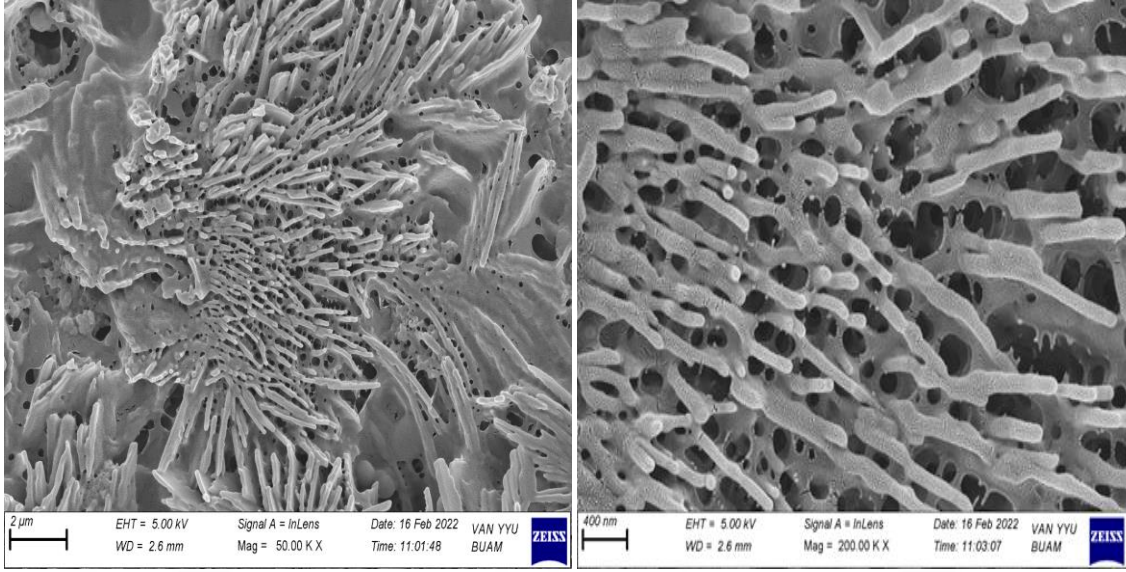
Nanoenkapsülasyon çözeltisi, materyal metot kısmında anlatıldığı gibi yoğurt starter kültürü için seçilen kombinasyonla karıştırılarak elektroeğirmeye hazır hale getirilmiştir. Optimum çalışma şartları sağlanan elektroeğirme cihazıyla starter kültür nanoenkapsüle edilmiştir.

Nanoenkapsüle edilen starter kültürlü materyalin morfolojik özelliklerinin belirlenerek, yapı ve fonksiyon ilişkilerinin değerlendirilmesi SEM ve TEM analizleriyle gerçekleştirilmiştir.

4.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Çalışmamızda nanoenkapsülasyon materyali için en uygun cihaz şartları; 11 kV yüksek güç uygulanmasıyla, 0.2 ml/h akış hızında ve iğne ile toplayıcı plaka arasındaki uzaklık 12 cm koşullarında gerçekleştirilmiştir. Nanoenkapsüle materyalin 2 µm ve 400 nm'deki SEM analiz görüntüsü Şekil 4.7'de verilmiştir. Analiz görüntüsündeki nano yapıların düzeye dik ve farklı boyutlarda olduğu görülmektedir.

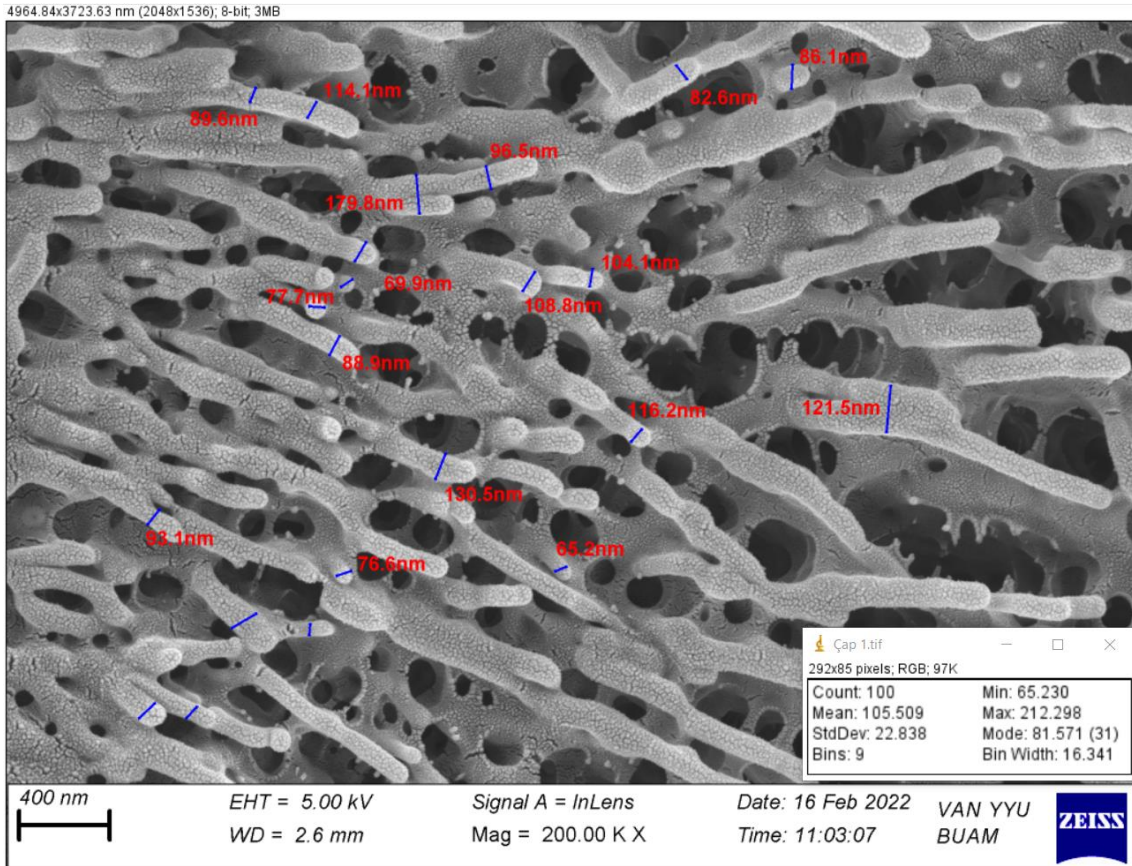
Liu ve ark. (2013) tarafından, yumurta akı proteine farklı oranlarda konjak glukomannanı (%0.01-1.0) katılarak oluşturdukları yumurta akı jelinin jelleşme özellikleri incelenmiştir. Oluşturulan jelin SEM analiz görüntüsünde yumurta akı proteini ile glukamannanın gözenekli bir ağ yapısını oluşturduğu ifade edilmiştir. Glukamannan oranı arttıkça ağ yapısındaki gözeneklerin de çap oranlarında büyüme olduğu vurgulanmıştır. Benzer şekilde çalışmamızda da salep glukomannanı (%2) ve protein esaslı WPI'dan (%40) oluşan nanoenkapsülasyon materyali üretilmiştir. Nanoenkapsülasyon materyalinin tabanında oluşan gözenekli yapının da bir ağ tabakası olabileceği düşünülmektedir.



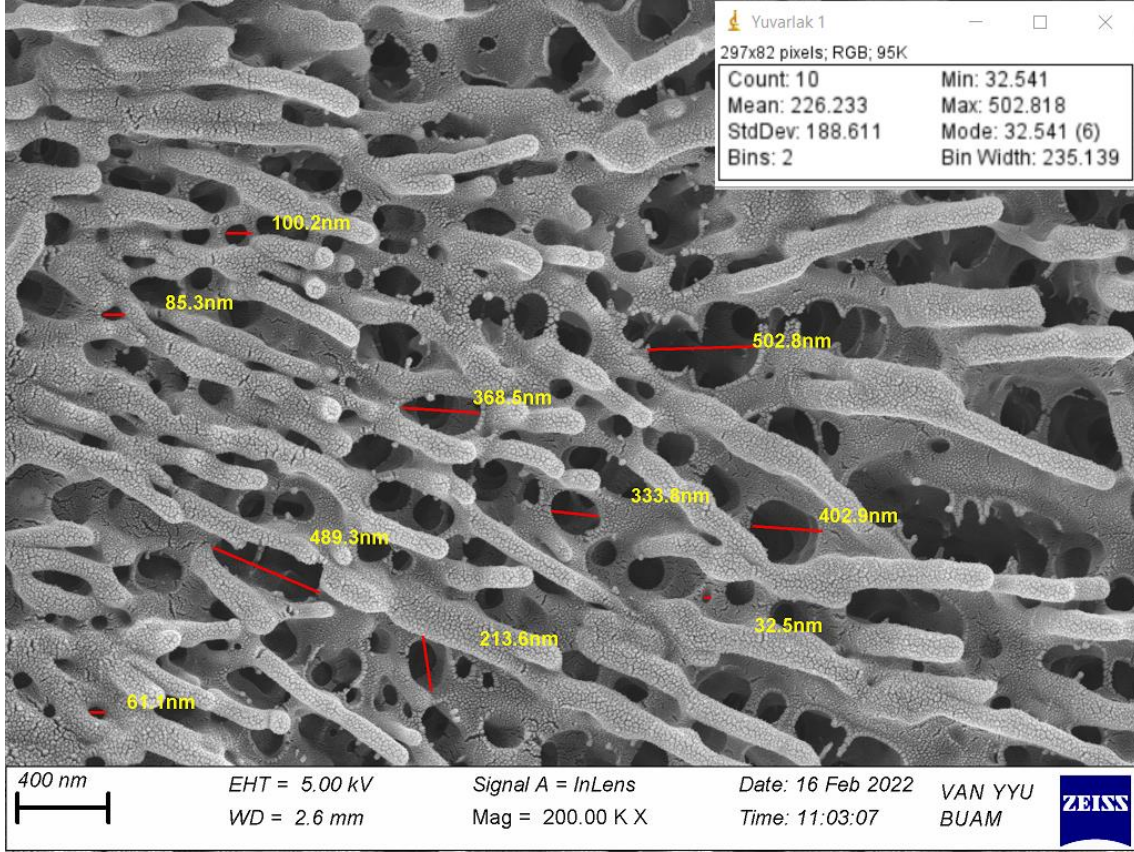
Şekil 4. 7. Nanoenkapsüle materyalin 2 µm ve 400 nm'deki SEM analiz görüntüsü.

Drosou ve ark. (2018), WPI ve pullulanı farklı oranlarda karıştırarak elektroğirme yöntemiyle nanolif oluşturmuş ve liflerin karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. WPI (%70) ve pullulan (%30) oranı olan karışım elektroğirme cihazında; 0.4 ml/h akış hızıyla, 18 kV enerji verilerek 8 cm uzaklıktaki toplama plakasına biriktirilmiştir. Düzgün şekilli oluşturulabilen en iyi lifin çapı 231 nm olarak ölçülmüştür. Karışımındaki pullulan oranı arttıkça lif yapısı boncuk haline doğru bozularak çapta artış gözlemlenmiştir. Benzer şekilde WPI ve guar gam belirli oranlarda karıştırılarak elektroğirme yöntemiyle nanolif oluşturulmaya çalışılmıştır. En uygun karışım oranı WPI (%9)/guar gam (%0.7) olarak belirlenen çözelti elektroğirme cihazına; 0.6 ml/h akış hızıyla, 20 kV akım uygulayarak 8 cm uzaklıktaki toplama plakasında biriktirilmiştir. Pürüzsüz ve en ince nanolif oluşturularak SEM analizinde boyutu 466 ± 87 nm olarak ölçülmüştür. Yapılan bu çalışmalarda görüldüğü gibi kullanılan maddelerin cinsi veya karışım oranları değiştiğinde, oluşan nano materyalin de boyut ölçülerinin önemli derecede değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Ramazani ve ark., 2019).

Nanoenkapsüle materyalin çap ve taban ağ yapısındaki gözenek büyüklüğü boyut ölçümü Image J programı ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8'de nano yapıların 100 farklı noktasından ölçüm alınarak çap değerlerinin 65.23-212.29 nm arasında olduğu görülmektedir. Ortalama çap boyutu 105.50 nm olarak ölçülmüştür. Aynı nano yapının farklı noktalarında farklı çap boyutlarının olduğu görülmektedir. Bu farklılık nanenkapsüle olan bakterilerin birikim yoğunluğundan olduğu düşünülmektedir.

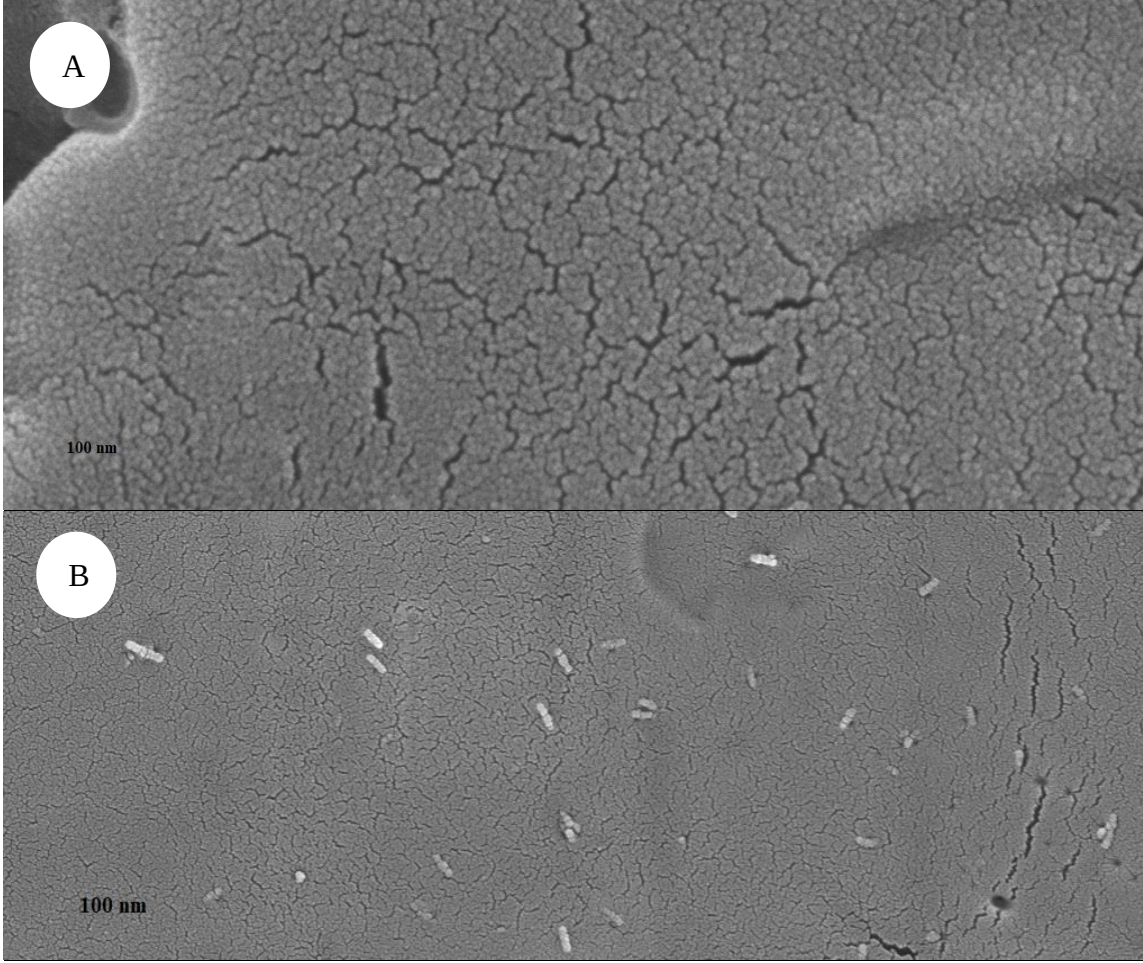


Şekil 4. 8. Nanoenkapsüle materyalin çap boyut ölçümünün SEM analiz görüntüsü.



Şekil 4. 9. Nanoenkapsüle materyaldeki yapıların boyut ölçümü SEM analiz görüntüsü.

Şekil 4.9’da nano yapının taban ağ yapısındaki gözenek çapları ölçülmüştür. Gözenek çap ölçüsü için 10 farklı noktanın ölçümü gerçekleştirilmiş olup değerler 32.54-502.81 nm aralığında değişim göstermiştir. Ortalama değer 226.23 nm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 10. Nanoenkapsüle materyalin 100 nm’deki SEM analiz görüntüleri.

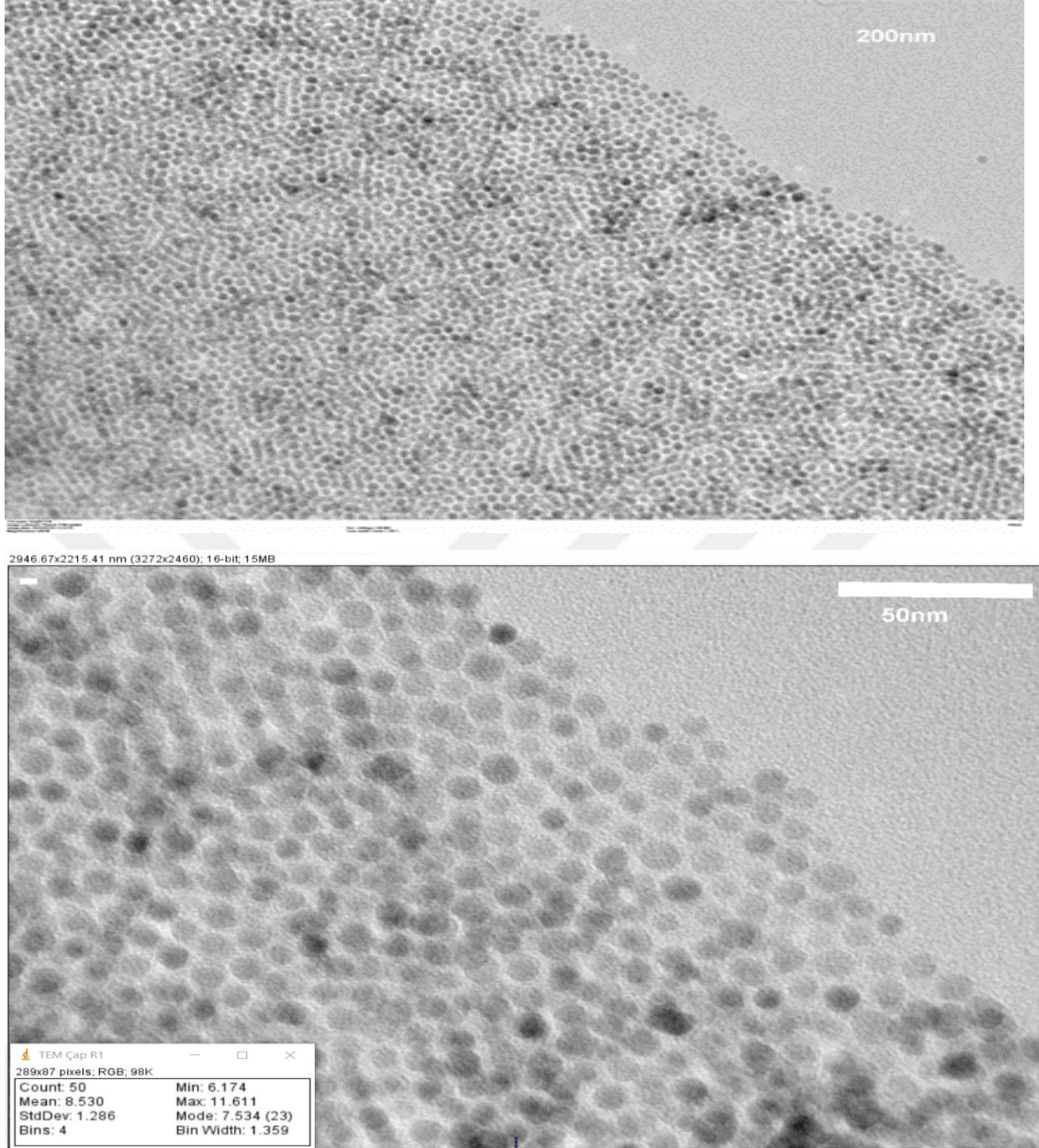
Şekil 4.10’da nanoenkapsüle materyalin bakteri ilave edilerek ve bakteri ilave edilmeden alınan SEM analiz görüntüleri gösterilmiştir. A ve B görüntüleri; %15 WPI, %1.0 glukomannan, 21 kV elektriksel güç, 0,75 ml/h akış hızında ve 8 cm toplayıcı plaka uzaklığındaki elektroegirme şartlarında üretilmiştir. Bu şartlarda herhangi bir nano yapının da oluşmadığı görülmektedir. 100 nm’deki A görüntüsünde bakteri olmadığı için sadece WPI ve salep glukomannanından oluşan materyal, gri siyah arasında bir renk olarak görüntülenmiştir. Ancak 100 nm’deki B görüntüsünde bakteriler kümeler halinde beyaz renkte görünmektedir.

Şekil 4.7’deki SEM analiz görüntüsündeki nano yapıların genellikle uç kısmında görünen beyazlıklarda bakteri olduğu düşünülmektedir. Bir miktar bakteri de taban ağ yapısı ve nano yapıların yüzeylerinde de bulunduğu görüntülenmiştir. Ancak taban ağ yapısındaki boşluklarda bakteri olmadığı görülmektedir.

Çalışma sonuçlarımızdaki SEM görüntülerinde; hem ölçülen boyutların küçüklüğü hem de yoğurt starter bakterilerinin kaplanarak yüzeyde toplandığı nano yapılar görülmektedir. Ölçüm sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında yoğurt starter bakterilerinin nano boyutta WPI ve salep glukomannanından oluşan elektroegirme çözeltisi ile enkapsüle edilebildiği görülmüştür.

4.4.2. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi

Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) inorganik ve organik malzemelerin mikro/nano ve kristal yapısının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Numunenin içerisinden geçen elektronların izdüşümsel olarak oluşturduğu üç boyutlu görüntüleme esasına göre çalışmaktadır. Özellikle biyolojik, polimerik ve nano yapıli malzemelerin yüksek çözünürlükte görüntülenmesi için uygun olduğı bilinmektedir.



Şekil 4.11. Nanoenkapsüle materyalin 200 nm ve 50 nm’deki TEM analiz görüntüsü.

Çalışmamızda yoğurt starter bakterilerinin nanoenkapsüle edildiği materyalin 200 nm ve 50 nm’deki TEM analiz görüntüsü Şekil 4.11’de görülmektedir. 50 nm’deki TEM analiz görüntüsünde imaj J ile 50 farklı noktadan nano yapıların çap ölçümü gerçekleştirilmiştir. Ölçüm değerleri 6.17-11.61 nm arasında iken ortalama çap değeri 8.53 nm olarak bulunmuştur.

Bardajee ve ark. (2022) tarafından yapılan, tetrasiklinin kontrollü ilaç olarak salınım çalışmasında modifiye salep glukomannanı nanokompozit üretiminde kullanılmıştır. İlaç salınım sistemlerinde genellikle karbonhidratça zengin olan kitosan,

aljinat, karragenan ve salep kullanıldığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada, salep glukomannanı üzerine poliakrilik asit tutundurularak hidrojel nanokompozit materyal üretilmiştir. İlaç salınım sistemlerinde hidrojel nanokompozit oluşturulmasında salep glukomannanın oldukça uygulanabilir materyal olduğu vurgulanmıştır. Nanokompozitin karakterizasyonu çalışmasında yapılan TEM analiz sonucunda nanotüplerin ortalama çapı 6-8 nm olarak ölçülmüştür. Çalışma sonucumuzdaki TEM analiz boyut ölçüm sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Ürettiğimiz nano materyalde bağlanma şekillerini tam olarak bilmediğimiz düzgün geometrik yapıların tekrarı görülmüştür. Li ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada, biyomedikal uygulamalarında kontrollü ilaç dağıtımını sağlayacak geniş yüzey alanına ve gözenek hacmine sahip silika temelli nanotüp taşıyıcı materyaller üretmişlerdir. Materyalin düzgün geometrik yapıların tekrarı ile oluştuğu ifade edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ise Zhu ve ark. (2021), ayarlanabilir fotoelektrik dönüşüm performansında çok duvarlı elektron iletken özelliğe sahip karbon nanotüpleri oluşturmuş ve nanotüplerin morfolojik yapı karakterizasyonu için TEM analizi yaptırmışlardır. TEM analizi sonucunda nanomateryalin düzgün geometrik şekillerden meydana geldiği görülmüştür.

Ipsen ve Otte (2007), *Bacillus licheniformis* bakterisinden elde edilen bir serin proteaz kullanılarak, peynir altı suyu proteini izolatlarından α -laktalbuminin hidrolizlenmesiyle ortama eklenen Ca^{+2} varlığı ile jel oluşumu gerçekleştirilmiştir. Jeldeki yapının TEM görüntülerinde; 20 nm civarında dış çapa, 8 nm iç çap ve birkaç μm uzunluğa ulaşan çok düzenli, boru şeklindeki yapıların oluştuğu bildirilmiştir.

Yapılan bu çalışmalarda da ifade edildiği gibi karbon temelli nanotüp yapıları, karbonun belirli bir uzunluk-çap oranında düzgün geometrik şekillerin tekrar etmesiyle oluşmuştur. Çalışma sonuçlarımızda da benzer şekilde düzgün geometrik yapıların tekrarı ettiği belirlenmiştir.

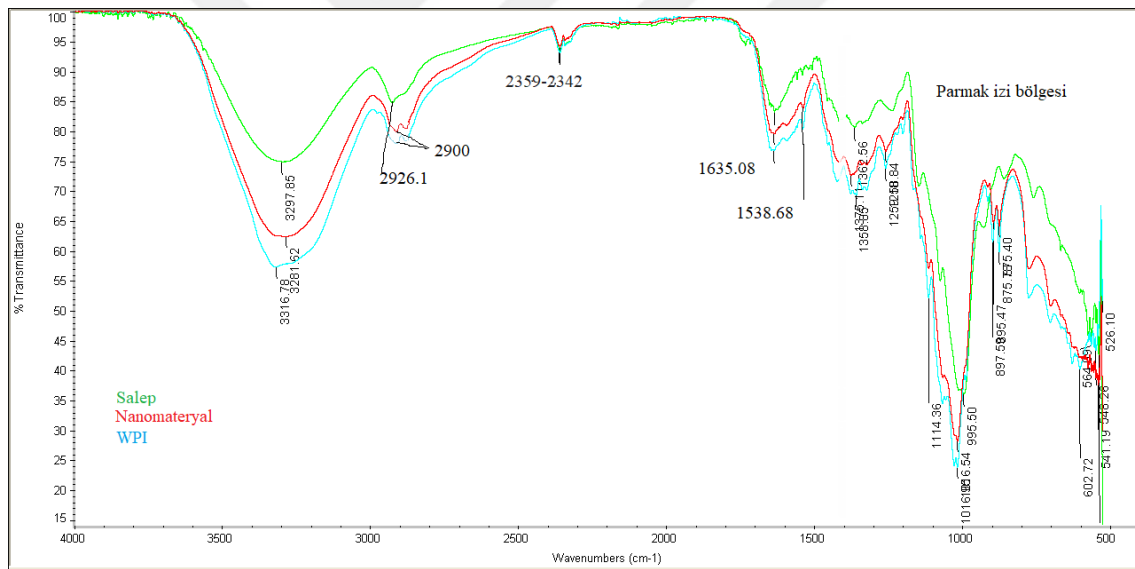
Şekillerdeki siyah görünen kısımlarda bakterilerinin bulunduğu düşünülmektedir. Bazı bölgelerde rengin daha koyu veya açık olmasının bakteri yoğunluk farkından kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak genel olarak değerlendirildiğinde bakterilerin homojen dağıldığı görülmektedir.

Bu çalışmalara göre SEM ve TEM analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, oluşturulan materyalin yoğurt starter bakterilerini nano boyutta kaplayabildiği sonucuna

varılmış olup nanoenkapsüle bakteriler ile yoğurt üretim safhasına geçilmesine karar verilmiştir.

4.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

FTIR analiz yöntemi; katı, sıvı veya çözelti halindeki organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel grupları, yapıdaki bağların durumunu ve bağlanma yerleri hakkında bilgi vermektedir. Absorbans değerleri, cihaz tarafından gönderilen ışının; C, H, O, N ve değişik radikal grupların birbirleriyle yaptıkları bağlarda, soğurulmasıyla gerilme ve titreşim sonucu oluşan enerjinin ölçüsü olarak bilinmektedir. (Hökelekli, 2021;). Çalışmamızda salep, WPI ve nanoenkapsüle materyalin FTIR ölçümü 4000-650 cm^{-1} dalga boyunda ölçülmüştür.



Şekil 4. 12. Salebin, WPI ve nanomateryalin FTIR ölçüm grafiği.

Şekil 4.12 salep FTIR grafiği incelendiğinde; 3297 cm^{-1} dalga boyundaki pik O-H arasındaki bağın titreşiminden kaynaklanırken, 2926 cm^{-1} dalga boyundaki pik C-H arasındaki bağın gerilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Vatansever (2016), gıda endüstrisinde kullanılan glukomannan yapılı biyopolimer özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada yaklaşık aynı absorbans değerlerini (3296-2925 cm^{-1}) benzer şekilde yorumlamıştır. Salebin süper absorbant olarak kullanıldığı başka bir çalışmada, FTIR ölçümü ile 3150-3500 cm^{-1} dalga boyu aralığında geniş bir absorbans elde edilmiştir.

Sebepler olarak bir kopolimer olan salepteki NH amid gruplarının varlığı ve etrafındaki OH bandının gerilmesiyle açıklanabilmektedir.

WPI'nın FTIR ölçüm sonuçları Şekil 4.12'de incelendiğinde; 3316 cm^{-1} dalga boyundaki pik N-OH arasındaki bağın gerilmesinden kaynaklandığı düşünülürken, 2900-2925 cm^{-1} dalga boyundaki pik C-H bağının gerilmesine bağlanmıştır. WPI için karakteristik absorpsiyon bantları olarak bilinen; 1635 cm^{-1} dalga boyundaki pikin amid I ve 1538 cm^{-1} dalga boyundaki pikin amid II'ye ait olabileceği düşünülmektedir. Ramazani ve ark. (2019)'da WPI ve guar gamı farklı oranlarda karıştırarak elektroegirme nanomateriyal üretmişlerdir. Çalışmanın devamında WPI için 1648-1538 cm^{-1} dalga boyundaki absorbans değerlerinin yapıda bulunan amid I ve amid II'nin karakteristik absorpsiyon bantları olduğu ifade edilmiştir.

Salep glükomannanı ve WPI'dan oluşan nanoenkapsüle materyalin FTIR ölçüm grafiği Şekil 4.12'de incelendiğinde; 3281 cm^{-1} dalga boyundaki pik, WPI'nın yapısında bulunan NH_2 ve NH grupları ile OH grubunun etkileşimi sonucunda aradaki bağların gerilme titreşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. 2900-2926 cm^{-1} dalga boyundaki piklerin ise C-H arasındaki bağın gerilmesinden oluştuğu söylenebilmektedir. WPI'nın karakteristik absorpsiyon bantları (1648-1538 cm^{-1}) herhangi bir değişime uğramadan nanoenkapsüle materyalde de görülmektedir. Hem salep hem de WPI FTIR grafiğinde olan 1635 cm^{-1} dalga boyundaki pik hiçbir değişime uğradan nanoenkapsüle materyalde de görülmüştür. Ayrıca, $\text{C}\equiv\text{N}$ ve $\text{N}\equiv\text{N}$ arasındaki bağların geriliminden kaynaklanan 2359-2342 cm^{-1} dalga boyundaki piklerin de nanomateriyalde korunduğu belirlenmiştir. Geriye kalan 1520-526 cm^{-1} dalga boyundaki piklerin salep ve WPI'dan oluşan aromatik bileşiklere ait çift bağlardan kaynaklandığı tahmin edilirken bu aralığın parmak izi bölgesi olarak tanımlandığı bilinmektedir.

Sonuç olarak FTIR grafikleri incelendiğinde; WPI ve salep grafiklerinde görülen spesifik bantların nanomateriyalde de görüldüğü belirlenmiştir. Hem elektroegirme çözeltisinin oluşturulmasında hem de elektroegirme sırasında uygulanan işlemler WPI ve salep glükomannanının üzerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı söylenebilmektedir. Bu aşamadan sonra elde edilen nanomateriyal, yoğurt bakterilerinin nanoenkapsülendirilerek bir gıda örneği olan yoğurt üretim uygulamasına geçilmiştir.

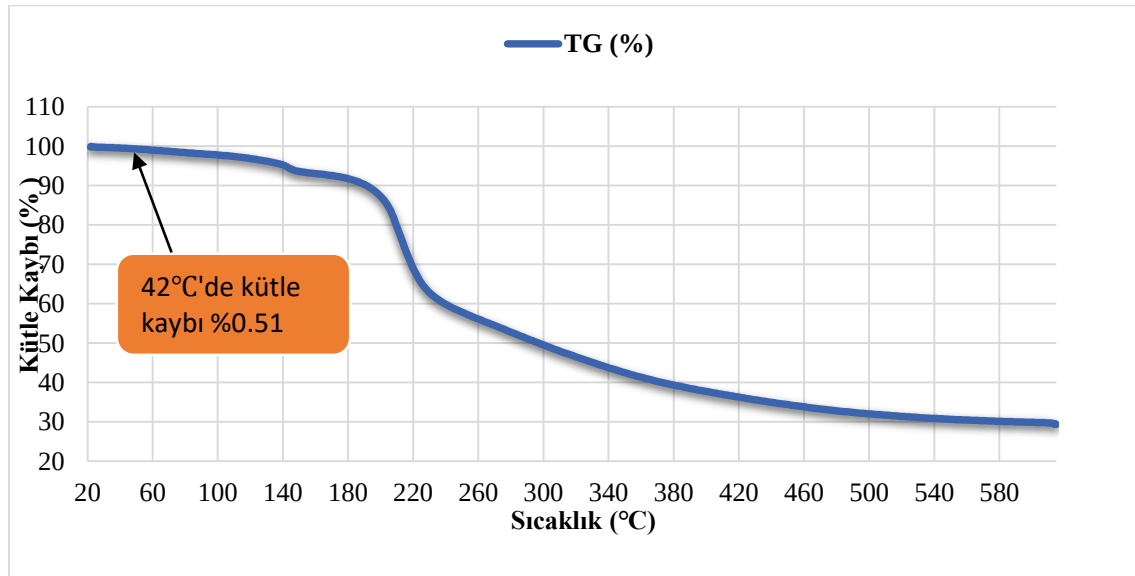
4.4.4. Termo gravimetrik analizi (TGA)

Termogravimetrik (TG) veya Termogravimetrik Analiz (TGA), genel olarak malzemelerde sıcaklığın veya zamanın bir fonksiyonu olarak meydana gelen kütle kaybı ve/veya kazanımlarının belirlenmesinde kullanılan bir analizdir. Sıcaklık ve süreye bağlı olarak malzemelerde kimyasal veya fiziksel değişimler sonucunda kütle kayıpları yaşanmaktadır.

Nanoenkapsüle materyalin TGA analiz sonucu Çizelge 4.8’de verilmiştir. Grafik incelendiğinde nanoenkapsüle materyalin iki noktada büyük oranda kütle kaybı olduğu görülmektedir. İlk kütle kaybı sıcaklığın 140-180°C aralığında meydana gelirken ikinci kütle kaybı 180-220°C aralığında gerçekleşmiştir. Grafiğin ilk bölümü incelendiğinde 100°C’ye kadar çok az kütle kaybı olduğu görülmektedir. Bu durum nanoenkapsüle materyalde su kaybı olduğunu ve materyalin nem oranının %5’ten düşük olabileceğini göstermektedir.

Nanomateryalin, her ne kadar karakterizasyon açısından yüksek sıcaklıklardaki kütle kayıpları incelenmiş olsa da gıda uygulamaları açısından değerlendirildiğinde; nanoenkapsüle materyal, yoğurt mayalama sıcaklığı olan 42°C’de süte eklendiği durumdaki termal yıkımlama değeri (%0.51) hesaplanarak grafik üzerinde gösterilmiştir. Bu yıkımlamadaki kütle kaybının yapısal olmayıp materyaldeki su içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.8. Nanoenkapsüle materyalin TGA analiz sonucu



Pullulan ve WPI belirli oranlarda karıştırılarak elektroğirme yöntemiyle nanolif oluşturtulmuş ve nanoliflerin morfolojisinin incelendiği bir çalışmada, Pullulan ve WPI'nın hem ayrı ayrı hem de karıştırılarak TGA analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda WPI'nın %7, pullulanın %5 neme sahip olduğu ve en büyük kütle kayıplarının 220-370°C aralığında meydana geldiği ifade edilmiştir (Drosou ve ark., 2018). Benzer şekilde Ramazani ve ark. (2019), WPI ve guar gamı farklı oranlarda karıştırarak nanoenkapsülasyon materyali oluşturmaya çalışmışlardır. Materyalin morfolojik özellikleri için FTIR ve TGA analizi yapılmıştır. WPI'nın TGA analiz sonuçlarında ilk büyük kütle kaybı 200°C'de gerçekleşmiştir. Guar gamın ise kütle kaybı 250°C'de meydana gelmiştir. Guar gamdaki kütle kaybının guar gamın yapısındaki galaktoz ve mannoz şekerlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca WPI ve guar gam karışımının kütle kaybı 250-400°C aralığında gerçekleşmiştir. Bu iki madde birlikte kullanılarak ısıl stabilitesi yüksek materyaller üretilebileceği ifade edilmiştir.

Çalışmamızdaki nanoenkapsüle materyal, salep glukomannanı ve WPI'dan oluştuğu için parçalanmış veya kalan kısım ile ilgili net bir bilgiye ulaşılamamaktadır. Ancak yapılan önceki çalışmalarla kıyaslandığında ilk kütle kaybının salep glukomannandaki şekerlerden (mannoz, glikoz ve galaktozdan) kaynaklandığı ve ikinci kütle kaybının sebebinin ise WPI (glikoz ve galaktoz) olduğu düşünülmektedir.

4.4.5. Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilitesi

Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilite sonuçlarına göre; Ab1 izolatının canlılığı sıvı ortamda 11.63 log iken nanoenkapsüllendikten sonra 10.64 log olarak sayılmıştır. Hesaplanan canlılık oranı ise %91.48 olarak tespit edilmiştir. As2 izolatı için ise sıvı ortamda 12.77 log iken nanoenkapsülenmiş formda 10.74 log'a düşmüştür. Hesaplanan canlılık oranı ise %84.10 olarak bulunmuştur.

Pullulan ve arabik gam kullanılarak nanoenkapsülasyonu yapılan *Lactobacillus* sp.'lerin (*L. rhamnosus* KLDS 1.0320, *L. acidophilus* KLDS 1.0327, *L. plantarum* KLDS 1.0328 ve *L. casei* KLDS 1.0338) canlılık çalışması elektroğirme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Dondurarak kurutmaya karşı elektroğirmenin bakterilerin canlılığını ne kadar koruyabildiği araştırılmıştır. Sonuç olarak; elektroğirme ile kaplanan

bakterilerde canlılık oranı %85.38-97.83 aralığında iken dondurularak kurutulan örneklerde canlılık oranı %80.92-89.84 aralığında değişim göstermiştir (Ma ve ark., 2021).

Xiao ve ark. (2020), *Lb. bulgaricus* ve *Lb. paracasei* probiyotik mikroorganizmalarını önce WPI ile sonra ikinci katman olarak ksantan gam ile birlikte mikrokapsüle etmişlerdir. Sonuç olarak WPI ile kapsüllenen toplam probiyotik mikroorganizma canlılığı %89.08 iken ikinci katman olarak kaplandığında ise canlılık oranı %86.36'ya düşmüştür. Bu yöntem ve materyallerin probiyotik mikroorganizmaların canlılığını korumada kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Yoğurt starter kültür bakterilerinin (*Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*) %2 sodyum aljinat ile mikrokapsüle edildiği bir çalışmada enkapsülasyon verimliği (canlılık stabilitesi) %77.96-86.30 aralığında değiştiği saptanmıştır (Kılıç ve ark., 2022).

Yapılan çalışmalarla sonuçlarımız kıyaslandığında, WPI ve salep glukomannanının nanoenkapsülasyonu yoğurt starter bakterilerinin canlılığını önemli derece koruduğu görülmektedir.

4.4.6. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi

Nanoenkapsüllenen starter kültürün düşük pH ortamlarında 2 ve 4 h'lik süreler sonundaki canlılık stabilitesi Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde Ab1 izolatu 4 h'in sonunda pH 2.0'de canlılığını %86.89 koruyabilirken pH 2.5'de %87.78 oranında canlılığını koruyabilmiştir. As2 izolatu ise aynı şartlarda sırayla canlılığını %86.47 ve %86.56 oranında koruyabilmiştir. İstatistiki olarak her iki izolatu da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ seviyesinde anlamlı bulunmuştur.

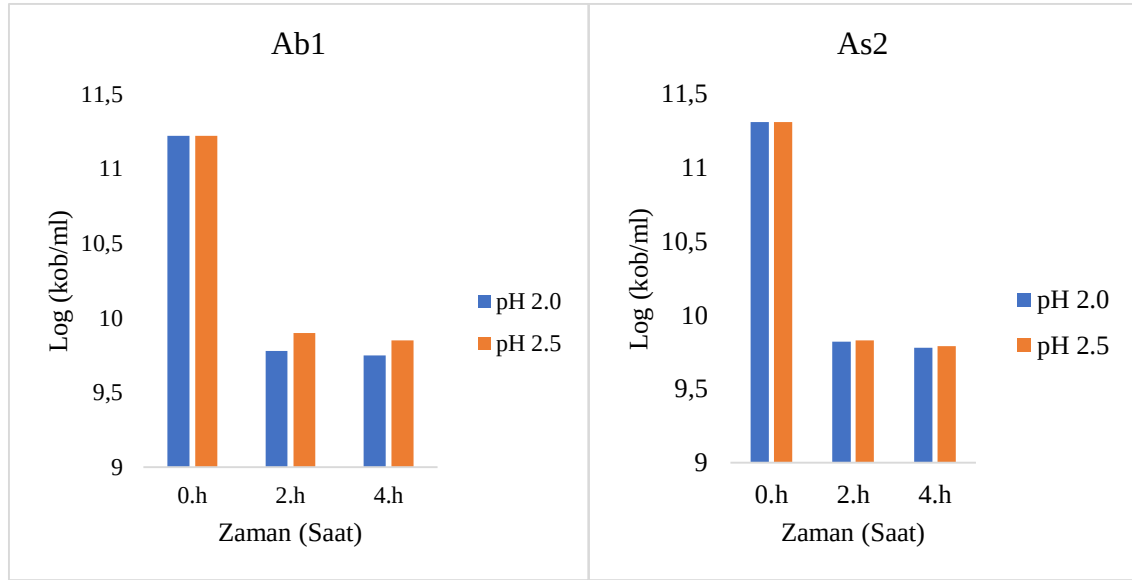
Çizelge 4.9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi

Süre	Ab1		As2	
	pH 2.0	pH 2.5	pH 2.0	pH 2.5
0.h	11.22±0.36 ^A		11.31±0.29 ^A	
2.h	9.78±0.28 ^B	9.90±0.070 ^B	9.82±0.028 ^B	9.83±0.028 ^B
4.h	9.75±0.070 ^B	9.85±0.098 ^B	9.78±0.028 ^B	9.79±0.056 ^B

A-B: Harfleri aynı örneğin aynı sürelerde farklı pH ortamında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

Ghorbani ve Maryam (2021), mısır nişastası ve sodyum aljinat ile probiyotik *Lactobacillus acidophilus* (LA5), *Lactobacillus rhamnosus* 23,527 LGG, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium animalis* bakterilerini nanoenkapsüle ederek; asidik ortamda (pH:7.0-4.5-2.8), farklı sıcaklıklarda (55°C-60°C -65°C) ve yoğurt içinde 20 gün 4°C’de canlılık stabilitesindeki değişimlerini değerlendirmişlerdir. Yoğurdun 20 gün depolanmasından sonra canlılık sayımında; laktobasillerde %97.9, bifidobakterilerde %96.9 canlılık korunur iken nanenkapsüle edilmeyen laktobasillerde %87.7, bifidobakterilerde ise %86.3 canlılık korunduğu tespit edilmiştir. Asidik ortam şartlarına, laktobasillerin bifidobakterilerden daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile probiyotik mikroorganizmaların hem bireysel hem de farklı kombinasyonlarının farklı materyallerle enkapsülendirilerek canlılık oranlarının korunabileceği ifade edilmiştir.

Çalışmamız literatürle uyumlu olup, oluşturulan nanomateryalin mikroorganizma canlılığını düşük pH ortamında önemli derecede koruyabildiği görülmüştür.



Şekil 4. 13. Nanoenkapsülenmiş starterlerin düşük pH ortamındaki canlılık stabilitesi.

4.4.7. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi

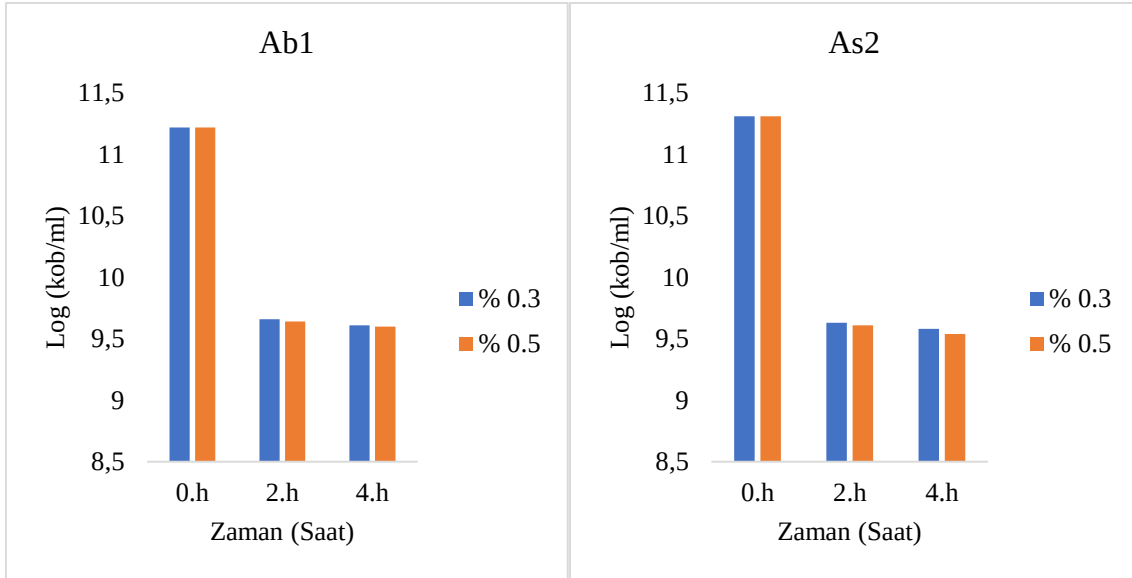
Starter kültürün gastrointestinal sistemde en fazla 4 h safra tuzu ile muamele olabileceği düşünüldüğünden in vitro ortamda kolik asit ile böyle bir analiz yapılmıştır. Nanoenkapsülenen starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi Çizelge 4.10'da verilmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde Ab1 izolatu 4 h'in sonunda %0.3 kolik asit ortamında canlılığını %85.65 koruyabilirken %0.5 kolik asit ortamında %85.56 oranında canlılığını koruyabilmiştir. As2 izolatu ise aynı şartlarda sırayla canlılığını %84.70 ve %84.35 oranında koruyabilmiştir. İstatistiki olarak her iki izolatu da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi

Süre	Ab1		As2	
	%0.3	%0.5	%0.3	%0.5
0.h	11.22±0.36 ^A		11.31±0.29 ^A	
2.h	9.66±0.056 ^B	9.64±0.021 ^B	9.63±0.028 ^B	9.61±0.029 ^B
4.h	9.61±0.014 ^B	9.60±0.010 ^B	9.58±0.028 ^B	9.54±0.028 ^B

A-B: Harfleri aynı örneğin aynı sürelerde farklı konsantrasyonlardaki Safra Tuzu ortamında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir.

Abedfar ve ark. (2021), farklı oranlarda EPS, peynir altı suyu proteini konsantresi, karboksimetil selüloz ve pektin ile sprey kurutma yöntemini kullanarak *Lactobacillus plantarum* (NR_104573.1) ve *Pediococcus pentosaceus* (NR_042058.1) bakterilerini kapsüllemişlerdir. Kapsüllenen bakterilerin; simüle edilmiş mide sıvısı ve safra koşullarında, 28 günlük depolama sonrasında canlılık stabilitesi araştırılmıştır. Araştırma sonucuna göre; nanoenkapsüle edilen bakterilerden *L. plantarum*'un canlılığı, 120 dakika safra tuzu çözeltisiyle muamele sonrasında 12.49 log'dan 7.36 log'a inerken *P. pentosaceus*'un canlılığı 9.86 log'dan 6.11 log'a kadar korunabilmiştir. 28 günlük depolama sonrasında ise *L. plantarum*'un canlılığı 12.41 log'dan 7.28 log'a inerken *P. pentosaceus*'un canlılığı 12.11 log'dan 6.96 log'a düşmüştür.



Şekil 4. 14. Nanoenkapsülenmiş starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi.

Bir diğer çalışmada araştırmacılar, gıda ürünlerinden izole edilerek tanımlanan *L. bulgaricus* ve *L. paracasei* suşlarını mikrokapsülasyon yöntemiyle, transglutaminaz enzimiyle jelleşmiş peynir altı suyu protein izolatu (WPI) ile kaplamıştır. Bu kaplamanın üzerine ikinci kez de ksantam gam ile kaplama uygulanmıştır. Kaplanan probiyotik mikroorganizmaların safra tuzu ve simüle mide sıvısı ortamlarında canlılıklarını oldukça yüksek oranda koruyabildikleri görülmüştür (Xiao ve ark., 2020). Yapılan başka bir çalışmada da aynı mikroorganizmalar ikinci katman olarak sodyum aljinat ile kaplanmış ve gastrointestinal sistem koşullarında benzer sonuçlar elde edilmiştir (Han ve ark., 2020).

Gerek belirtilen literatürler gerekse yaptığımız çalışma sonucuna göre nanoenkapsüle edilen mikroorganizmaların safra tuzu ortamında canlılıklarını yüksek oranlarda korudukları belirlenmiştir.

4.4.8. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısı ortamındaki canlılık stabilitesi

Nanoenkapsüle starterin simüle mide sıvısı ortamı için %0.3'lük pepsin çözeltisi kullanılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiş olup izolatların canlılık stabilitesindeki değişim Şekil 4.15'te gösterilmektedir. İzolatlar, belirtilen ortamda 4 h'lik inkübasyon sonucunda canlılıklarını sırasıyla Ab1 %86.98 ve As2 %86.64 oranında

koruyabilmişlerdir. İstatistiki olarak her iki izolatin da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P<0.05$ seviyede önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısındaki canlılık stabilitesi

	Ab1	As2
Süre	%0.3 Pepsin	%0.3 Pepsin
0.h	11.22±0.36 ^A	11.31±0.29 ^A
2.h	9.83±0.030 ^B	9.84±0.020 ^B
4.h	9.76±0.020 ^C	9.80±0.020 ^B

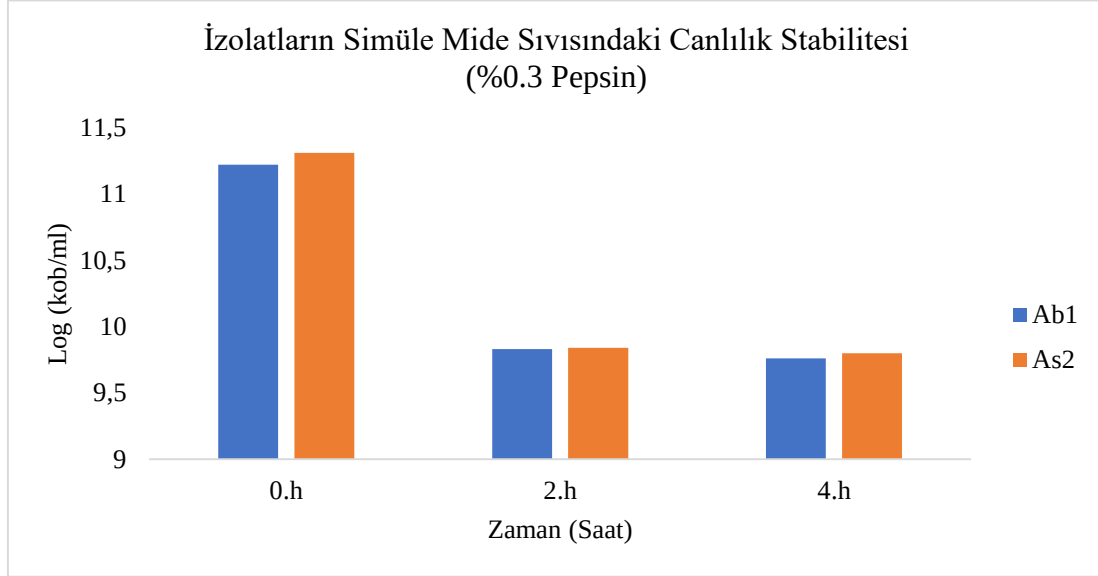
A-B: Harfleri aynı örneğin aynı sürelerde farklı konsantrasyonlardaki simüle mide sıvısı ortamında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P<0.05$).

Yılmaz ve ark. (2020), elektroegirme yöntemiyle aljinat temelli nanofiberler oluşturarak *Lactobacillus paracasei* KS-199 suşunu nanoenkapsüle etmişlerdir. Nanoenkapsüle edilen suşun simüle edilmiş gastrointestinal sistemde canlılığını 70.8 CFU/ml'den 64.1 CFU/ml'ye koruduğu gösterilmiştir. Bu nanoenkapsülleme yönteminin probiyotik mikroorganizmaları korumada kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Afzaal ve ark. (2022) tarafından mikroenkapsüle edilen probiyotik *Bifidobacterium* sp.'lerinin (*B. bifidum* PRL2010, *B. bifidum* NCIMB 41,171, *B. bifidum* CNCM I-4319 ve *B. bifidum* BGN4) yoğurdun fizikokimyasal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Mikroenkapsülasyonda sodyum aljinat ve WPI kullanılmıştır. Yapılan yoğurt örneklerinin 28 günlük depolanması sonucunda probiyotik bakteri canlılığı; WPI ile mikrokapsüllenen grupta, hem kontrol hem de sodyum aljinat ile mikrokapsüle edilen yoğurt örneklerinden daha yüksek bulunmuştur.

Farklı bir çalışmada emülsiyon teknolojisi kullanılarak probiyotik *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisi, peynir altı suyu protein izolatu ve transglütaminaz enziminin jelleşme etkisi göz önüne alınarak soya yağı içerisinde enkapsüle edilmiştir (Chen ve ark., 2017). Enkapsüller tekrar sodyum aljinat çözeltisi ile kaplanarak çift katmanlı mikrokapsüller oluşturulmuştur. Çalışmanın devamında Depolama sırasında mikrokapsüllerin simüle gastrointestinal ortamda ve farklı sıcaklıklarda canlılık stabilitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak; simüle mide sıvısı ortamında % 71.4, safra tuzu ortamında % 58.5 oranında canlılığını koruyabilmiştir. Serbest hücrelerin 37 °C'de 28 günlük depolanmasında 5.18 log azalma olurken, mikrokapsüllenen hücrelerin 60 günlük

depolanmasında 4°C’de canlılık kaybı 1.15 log ve -20°C’de 0.55 log olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4. 15. Nanoenkapsülenmiş starterlerin simüle mide sıvısındaki canlılık stabilitesi.

Bu çalışma, probiyotik mikroorganizmaların canlılığını koruyabilmek için farklı ortamlarda farklı materyaller ile mikroenkapsüle edilmesinin başarılı sonuçlar doğuracağını göstermiştir. Nitekim yapmış olduğumuz çalışmada kullandığımız nanoenkapsülasyon materyalleri ve uyguladığımız yöntemler yapılan literatür çalışmalarından oldukça yüksek bulunmuştur. Bu da bunların daha sonraki çalışmalarda başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir.

4.4.9. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi

Nanoenkapsüle starter kültür 3 farklı ortamda (-20°C, +4°C ve +25°C) depolanarak 2’şer aylık sürelerde sayımlar yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiş olup canlılık oranlarındaki değişim Şekil 4.16’da sergilenmiştir. Farklı sıcaklık ortamlarındaki (-20°C, +4°C ve +25°C) depolama sonrası 4 ayın sonunda; Ab1 izolatının canlılık değerindeki azalış sırayla %78.57-79.88 ve %80.07 iken As2 izolatının canlılık değerindeki azalış sırayla %77.74- 79.23 ve %79.88 oranında olmuştur. İstatistiki olarak her iki izolatın da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ seviyede önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi

Depolama	Ab1			As2		
Süresi	Depolama Sıcaklıkları					
(Ay)	-20°C	+4°C	+25°C	-20°C	+4°C	+25°C
0	10.64±0,00 ^{Aa}			10.74±0,00 ^{Aa}		
2	9.34±0,056 ^{Bb}	9.75±0,014 ^{Ab}	9.77±0,056 ^{Ac}	9.47±0,056 ^{Bc}	9.77±0,028 ^{ABc}	9.86±0,056 ^{Ac}
4	8.36±0,028 ^{Bb}	8.50±0,042 ^{Ab}	8.52±0,070 ^{Ac}	8.35±0,070 ^{Ac}	8.51±0,084 ^{Ac}	8.58±0,084 ^{Ac}

A-B: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı depolama sıcaklıklarında örnekteki mikroorganizma sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

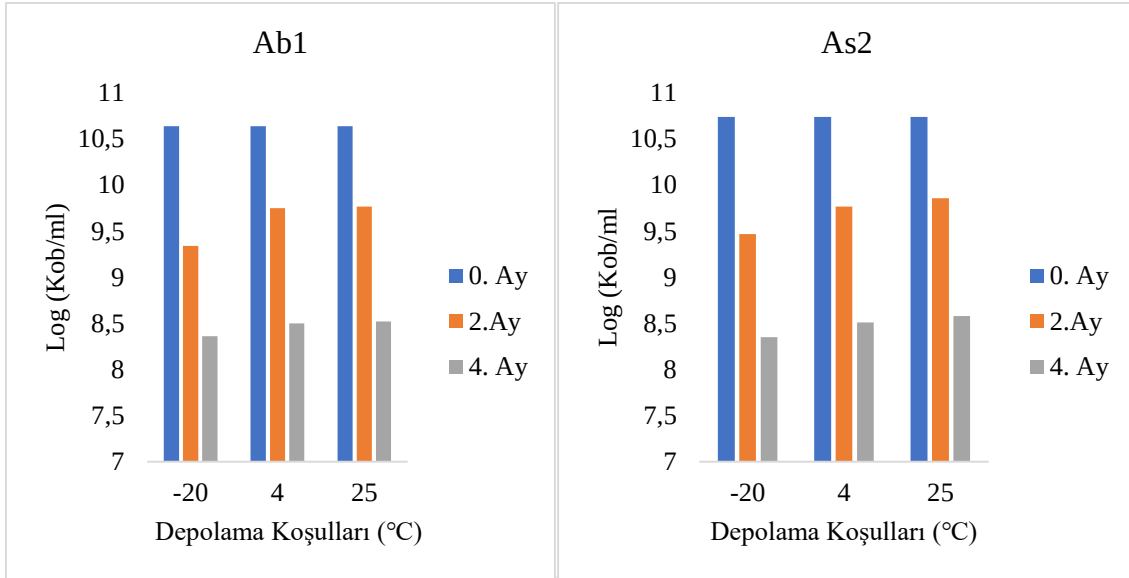
a-c: Harfleri, aynı depolama sıcaklıklarında örneklerde farklı depolama süresince mikroorganizma sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

Jayani ve ark. (2020), bakteriyel selüloz ve polivinil alkol ile elektroeğirme yöntemi kullanılarak *Lactobacillus acidophilus* 016 nanokapsüle edilmiştir. 35°C’de 24 gün depolamadan sonra canlılığını %71 oranında koruduğu belirtilmiştir. Çeşitli ticari uygulamalar için bu nanoenkapsülleme yönteminin uygulanabileceği belirtilmiştir.

Ma ve ark. (2021), tarafından *Lactobacillus sp.* (*L. rhamnosus* KLDS 1.0320, *L. acidophilus* KLDS 1.0327, *L. plantarum* KLDS 1.0328 ve *L. casei* KLDS 1.0338) türlerini arabik gam ve pullulan ile Nanoenkapsüle etmek için nanofiberler oluşturmuşlardır. Nanoenkapsüllenen *Lactobacillus sp.*’lerinin 28 günlük depolama süresi sonunda dondurulanlara göre canlılık oranları oldukça yüksek bulunmuştur (%80.92–89.84’e karşılık %85.38–97.83). Bu çalışma, prebiyotik olan pullulan ve arabik gamın probiyotik mikroorganizmaların korunmasında yeni ve etkili bir materyal olduğunu göstermiştir.

Pektin ve poli vinil alkol ile nanolif oluşturularak probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 bakterisinin canlılık stabilitesi üzerine yapılan bir başka çalışmada ise (Xu ve ark., 2022), *Lactobacillus rhamnosus*’un canlılığını %89.26 oranında koruduğu görülmüştür. Ayrıca nanoliflerin 4°C’de 21 günlük depolama sonucunda da canlılığını %84.63 oranında korumuştur.

Moreno ve ark. (2021)’nın yapmış olduğu çalışmada ise probiyotik *Bifidobacterium animalis* subsp. *laktis* bakterisinin 30°C’de 4 hafta depolama sonrasında kontrole göre canlılık oranı belirlenmiştir. Buna göre; nanokapsüllenen örnekte 3 log azalma olurken kontrol örneğinde 7.57 log kayıp tespit edilmiştir.



Şekil 4. 16. Nanoenkapsülenmiş starterlerin farklı ortamlardaki canlılık stabilitesi.

Yaptığımız çalışma literatürle uyum içindedir. Normalde soğuk ortamda mikroorganizmaların canlılığını daha iyi koruduğu bilinmektedir. Ancak nanoenkapsülasyonda bir kriyoprotektant kullanılmadığı için izolatların canlılık stabilitesinde -20°C’de daha fazla canlılık kaybı olmuştur. Gerek literatürde gerekse çalışmamızda nanoenkapsülasyonun izolatları en iyi oda sıcaklığında koruyabildiği görülmektedir.

4.5. Nanoenkapsüle Starter Kültürden Üretilen Yoğurtların İnkübasyon Süresi

Çalışmada nanoenkapsüle starter kültür, yoğurt üretimi için ön işlemleri uygulanmış süte 6 farklı konsantrasyonda (%0.1-0.5-0.75-1.0-1.5 ve %2.0, v/v) katılarak inkübasyon süreleri takip edilmiştir. Kontrol olarak da nanoenkapsüle edilmeyen yoğurt kültürü (%2.0, v/v) kullanılmıştır. Çizelge 4.13 incelendiğinde; katılan kültür konsantrasyonlarıyla inkübasyon süresi arasında önemli bir ilişki olduğu görülmektedir. Ayrıca aynı orandaki nanoenkapsüle kültür ile kontrol grubu arasında önemli bir fark olmadığı da gözlemlenmiştir. Bunun nedeni kontrol grubunda direkt stok kültür kullanılarak hemen aktifleşmesi ancak nanoenkapsüle bakterilerin aktifleşmek için bir ara kültür oluşturulmasına gerek duyulmasıdır. Nanoenkapsüle materyal bir ara kültür işlemi uygulanarak yoğurt üretiminde kullanılacak olsa konsantrasyon miktarının da azalacağı düşünülmektedir.

Çizelge 4.13. Nanoenkapsüle starterin farklı oranlarıyla yoğurt üretimi ve inkübasyon süreleri

İnkübasyon Süresi (Saat)	Katılan Kültür Konsantrasyonları						Kontrol %2.0
	%0.1	%0.5	%0.75	%1.0	%1.5	%2.0	
4.0	6.28±0.01	6.24±0.02	6.19±0.01	6.17±0.01	6.16±0.02	6.06±0.02	5.88±0.03
4.5	6.24±0.03	6.14±0.03	6.13±0.02	6.10±0.02	6.09±0.03	5.92±0.01	5.76±0.01
5.0	6.11±0.01	6.06±0.03	6.05±0.01	6.04±0.04	5.96±0.03	5.71±0.01	5.69±0.02
5.5	6.02±0.00	5.97±0.04	5.96±0.03	5.93±0.05	5.68±0.04	5.38±0.01	5.43±0.01
6.0	5.98±0.01	5.86±0.01	5.77±0.01	5.65±0.05	5.41±0.01	5.02±0.00	5.06±0.01
6.5	5.92±0.03	5.64±0.05	5.52±0.01	5.38±0.02	5.05±0.01	4.86±0.02	4.92±0.05
7.0	5.73±0.05	5.24±0.01	5.12±0.04	5.03±0.00	4.87±0.02	4.76±0.04	4.80±0.06
7.5	5.53±0.02	4.94±0.01	4.92±0.02	4.86±0.02	4.75±0.03	4.52±0.02	4.65±0.04
8.0	5.32±0.01	4.82±0.02	4.76±0.02	4.72±0.02	4.61±0.04		
8.5	5.12±0.01	4.74±0.04	4.68±0.00	4.66±0.03			
9.0	4.86±0.04	4.62±0.00	4.55±0.01				
9.5	4.64±0.00						

Yapılan literatür taramasında yoğurt bakterilerinin çalışmamızdaki gibi bir nanomateriyalle kaplanması söz konusu olmadığı gibi böyle nanoenkapsüle bakterilerin yoğurt üretiminde kullanımına yönelik çalışmaya da rastlanılmamıştır. Mikroenkapsülasyonla bakteri kaplaması yapılan ve yoğurt üretimi gerçekleştirilen bir çalışmada da (Hökelekli, 2021) yoğurtların inkübasyon süresine ait herhangi bir veri bulunmamaktadır. Ancak normal starter kültürle yapılan çalışmalarda; Çelik (2020) üretilen yoğurtların inkübasyon süresini ortalama 6-8 saat arasında, Uzunsoy (2018) 255-1095 dakika (4.25-18.25 saat) arasında bulmuştur. Yoğurt üretim süresi; kullanılan kültürün aktivitesine, kültürü oluşturan izolatların kültürdeki oranlarına (1/1-1/2-2/1, vb.) ve süte inokülasyon miktarlarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Yoğurt inkübasyon süresinin 3-4 saat olarak bilinmesine rağmen, daha önce belirtilen nedenlerden dolayı bu sürenin 4-19 saat arasında değiştiği görülmektedir (Özer, 2006; Halkman, 2011).

4.5.1. Üretilen yoğurtların fizikokimyasal özellikleri

4.5.1.1. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri

Yoğurt örneklerinin depolama sırasında kurumadde ve kül değerlerinde önemli bir değişiklik olmayacağı düşünüldüğünden depolamanın sadece 1.-14. ve 28. günlerinde analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları ve istatistiksel değerlendirmesi Çizelge 4.14'te verilirken Şekil 4.17'de değişim grafiksel olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri

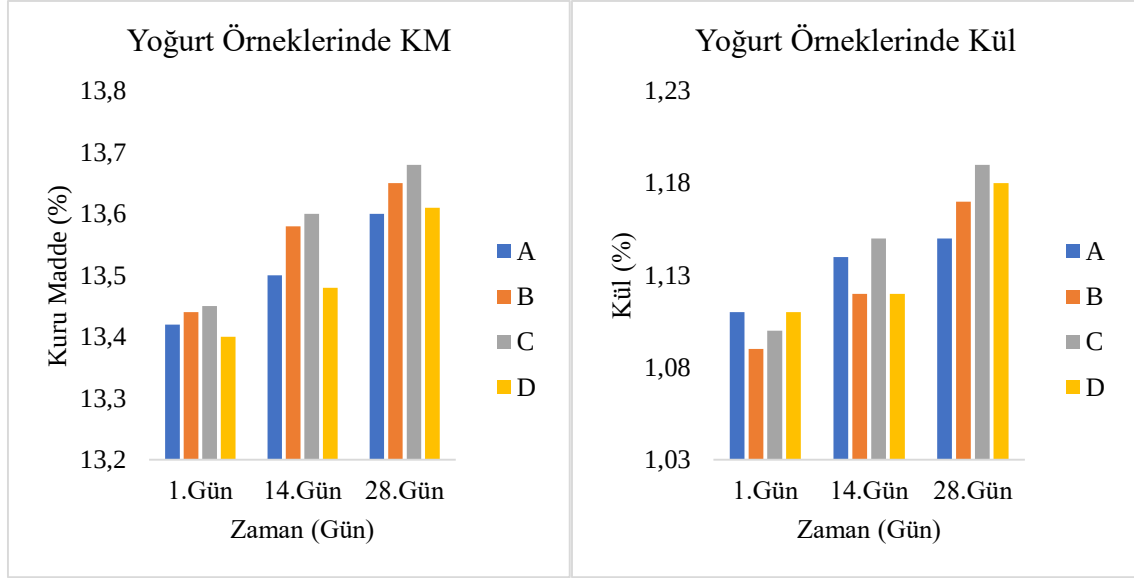
Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)					
	1	14	28	1	14	28
	%Kurumadde			%Kül		
A	13.42±0.282 ^{Aa}	13.50±0.070 ^{Aa}	13.60±0.113 ^{Aa}	1.11±0.014 ^{Aa}	1.14±0.028 ^{Aa}	1.15±0.014 ^{Aa}
B	13.44±0.141 ^{Aa}	13.58±0.000 ^{Aa}	13.65±0.141 ^{Aa}	1.09±0.042 ^{Aa}	1.12±0.028 ^{Aa}	1.17±0.028 ^{Aa}
C	13.45±0.141 ^{Aa}	13.60±0.070 ^{Aa}	13.68±0.000 ^{Aa}	1.10±0.282 ^{Aa}	1.15±0.028 ^{Aa}	1.19±0.014 ^{Aa}
D	13.40±0.070 ^{Aa}	13.48±0.141 ^{Aa}	13.61±0.155 ^{Aa}	1.01±0.014 ^{Bb}	1.02±0.014 ^{Bab}	1.08±0.084 ^{Ba}

A-B: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte KM (kurumadde) değerlerinde önemli olmadığı, kül değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

a-b: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince kül değerlerinde önemli, KM değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını gösterir (P<0.05).

Yoğurt üretiminde, yağsız süt tozu yerine peynir altı suyu ve yayık altı suyu tozunun kullanım olanaklarının araştırıldığı çalışmada üretilen yoğurt örnekleri 21 gün buzdolabı şartlarında depolanmıştır. Depolama süresince her hafta yoğurt örneklerinin fizikokimyasal analizleri yapılmıştır. Yoğurt örneklerinin kurumadde değerleri %15.02-16.38 aralığında iken kül değerleri %0.71-0.99 aralığında değişim göstererek depolama boyunca süte ilave edilen maddelere bağlı olarak arttığı ifade edilmiştir (Bakırcı, 2016).

Çalışma sonucumuzdaki yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri incelendiğinde, nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurtların kurumadde ve kül değerleri genel olarak kontrolden yüksek bulunmuştur. İstatistiksel olarak; kurumadde değerlerindeki artış anlamlı bir fark oluşturmazken kül değerlerinde önemli bir artışa (P<0.05) sebep olmuştur. Bu artışın sebebi literatüre paralel olarak nanoenkapsüle materyalden ve depolama süresinin sonuna doğru yoğurt örneklerindeki su kaybından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4. 17. Yoğurt örneklerinin kurumadde ve kül değerleri.

4.5.1.2. Yoğurt örneklerinin pH ve asitlik (%Laktik asit) değeri

Yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama sırasındaki pH değişimleri Çizelge 4.15 ve Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurt örneklerinin pH değerleri 4.01-4.12 aralığında değişim gösterirken kontrol yoğurt örneklerinin pH değeri 3.76-3.90 aralığında belirlenmiştir. Kontrol örneğinin en düşük pH değeri depolamanın 14. gününde ölçülmüştür.

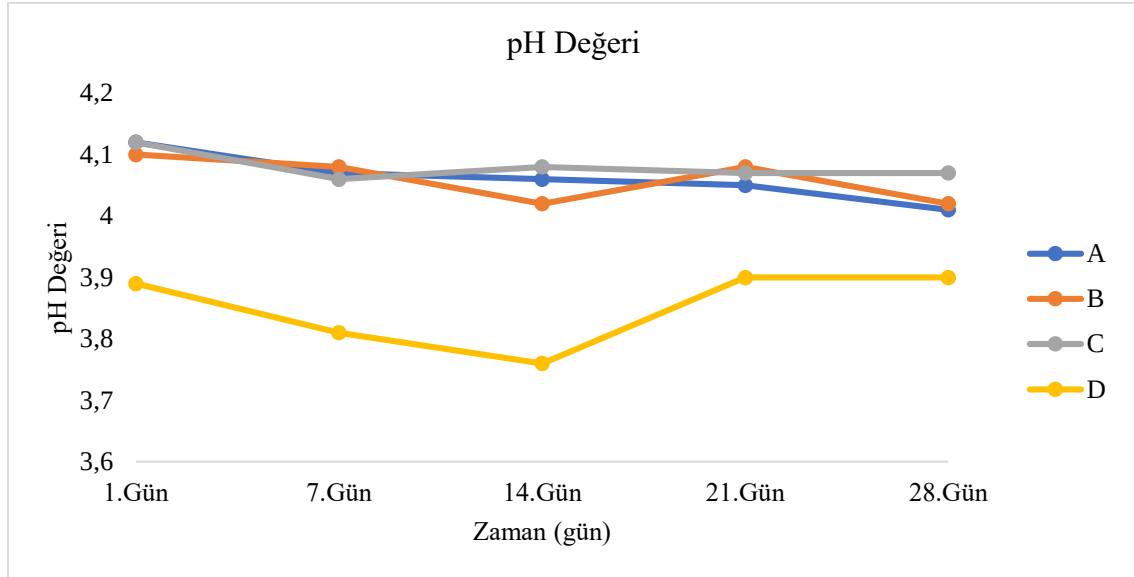
Çizelge 4.15. Yoğurt örneklerinin pH değerleri

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
	pH Değeri				
A	4.12±0.028 ^{Aa}	4.07±0.000 ^{Aab}	4.06±0.028 ^{Abc}	4.05±0.000 ^{Abc}	4.01±0.028 ^{Ac}
B	4.10±0.014 ^{Aa}	4.08±0.000 ^{Aa}	4.02±0.014 ^{Ab}	4.08±0.014 ^{Aa}	4.02±0.028 ^{Ab}
C	4.12±0.014 ^{Aa}	4.06±0.000 ^{Aa}	4.08±0.056 ^{Aa}	4.07±0.007 ^{Aa}	4.07±0.028 ^{Aa}
D	3.89±0.014 ^{Ba}	3.81±0.014 ^{Bb}	3.76±0.014 ^{Bc}	3.90±0.028 ^{Ba}	3.90±0.014 ^{Ba}

A-B: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte PH değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

a-c: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince PH değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir(P<0.05).

Aynı depolama süresi içerisinde nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin pH değerleri kontrol grubu ile istatistiki olarak anlamlı fark olacak şekilde değişim göstermiştir. Ayrıca aynı konsantrasyondaki yoğurt örneklerinin farklı depolama süresince de pH değişimleri istatistiki olarak anlamlı ($P<0.05$) bulunmuştur



Şekil 4. 18. Yoğurt örneklerinin pH değişim değerleri.

Yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama sırasındaki asitlik değerlerindeki değişim Çizelge 4.16 ve Şekil 4.19’da verilmiştir. Nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin asitlik değeri; depolamanın 1. gününde B yoğurt örneğinde en düşük değer (%1.07) görülürken en yüksek değer depolamanın 21. gününde A yoğurt örneğinde (%1.24) ölçülmüştür. Kontrol yoğurt örneğinde ise asitlik değeri en düşük depolamanın 1. gününde (%1.16) iken en yüksek 21. günde (%1.31) ölçülmüştür. Kontrol örneklerinin asitlik gelişiminin nanoenkapsüle edilen kültürlü örneklerden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.16. Yoğurt örneklerinin asitlik (%Laktik Asit) değerleri

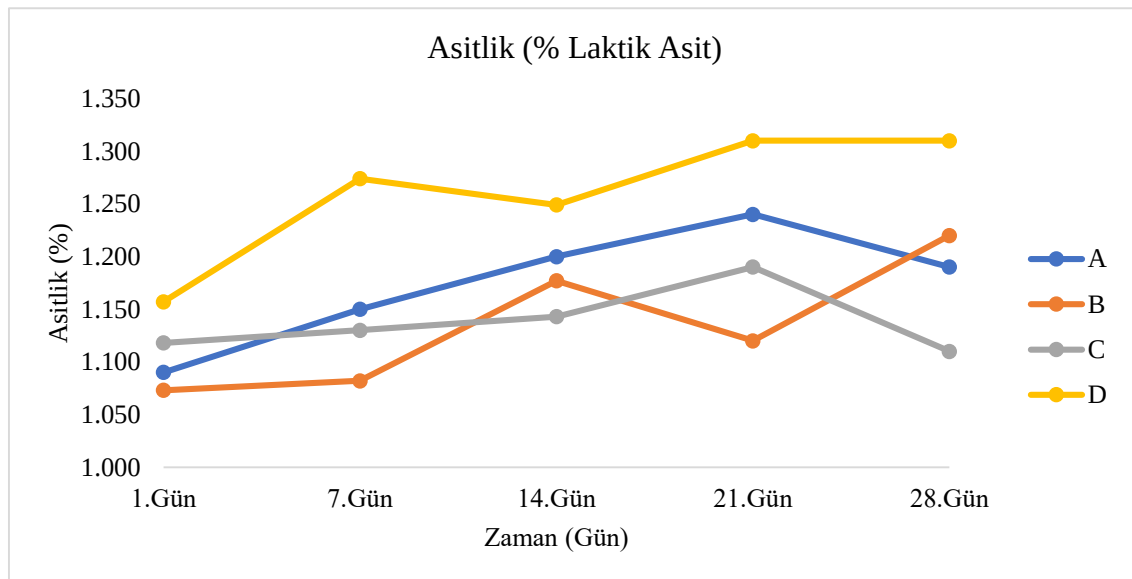
Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
Laktik asit değerleri (%)					
A	1.09±0.003 ^{Cd}	1.15±0.006 ^{Bc}	1.20±0.003 ^{Bb}	1.24±0.011 ^{Ba}	1.19±0.006 ^{Cb}
B	1.07±0.004 ^{De}	1.08±0.003 ^{Dd}	1.18±0.004 ^{Cb}	1.12±0.000 ^{Dc}	1.22±0.003 ^{Ba}
C	1.12±0.003 ^{Bdc}	1.13±0.003 ^{Cc}	1.14±0.004 ^{Db}	1.19±0.008 ^{Ca}	1.11±0.003 ^{Dd}
D	1.16±0.003 ^{Ad}	1.27±0.001 ^{Ab}	1.25±0.006 ^{Ac}	1.31±0.008 ^{Aa}	1.31±0.003 ^{Aa}

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte asitlik değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

a-e: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince asitlik değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

Yoğurt fermentasyonu sırasında oluşan laktik asit, yoğurdun önemli bir lezzet bileşeni olup yoğurtta belli oranda olması tercih edilmektedir (Çakmakçı, 2016). Ayrıca Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği de yoğurtta titrasyon asitliğinin (%laktik asit) 0.6-1.5 aralığında olması gerektiğini belirtmiştir (Tebliğ No 2009/25).

Çizelge 4.18 incelendiğinde; yoğurt örneklerinin asitlik gelişim değerleri hem depolama süresince hem de örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir. Kontrole göre değerlendirildiğinde nanoenkapsülasyonun, kültürün asitlik gelişimini azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.19. Yoğurt örneklerinin laktik asit (%) üretim değerleri.

Bakırcı, (2016) tarafından süt tozu yerine peyniraltı suyu ve yayıkaltı suyu tozu kullanılarak üretilen zenginleştirilmiş yoğurt üretiminde; yoğurt örneklerinin 21 günlük depolanmasında pH değişimi 4.14-4.27 aralığında iken laktik asit üretimi %1.23-1.38 aralığında olup depolama sonuna doğru artış göstermiştir. Mahmoodi Pour ve ark. (2022), tarafından da farklı probiyotik bakteriler (*Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus plantarum*) tek ve çok katmanlı emülsiyon yöntemi ile kapsüllenenek yoğurdun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada yoğurt kültürüne ilave olarak probiyotik bakterilerden; serbest, tek katmanlı ve çok katmanlı emülsiyon ile kapsüllemiş örnekler oluşturulmuştur. 21 günlük depolama süresince yapılan analiz sonuçları kontrole göre kıyaslandığında; kapsüllemenin pH düşüşünü ve asitlik gelişimini azalttığı görülmüştür. Afzaal ve ark. (2022) tarafından mikroenkapsüle edilen probiyotik *Bifidobacterium* sp.'lerinin (*B. bifidum* PRL2010, *B. bifidum* NCIMB 41,171, *B. bifidum* CNCM I-4319 ve *B. bifidum* BGN4) yoğurdun fizikokimyasal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Mikroenkapsülasyonda sodyum aljinat ve WPI kullanılmıştır. Yapılan yoğurt örneklerinin 28 günlük depolanması sonucunda, pH değeri kontrol yoğurt örneğine göre WPI ile mikrokapsüllenen grupta daha yüksek bulunurken asitlik gelişimi daha az olmuştur. Üzüm çekirdeği ekstraktlarının peyniraltı suyu protein konsantresi ve guar gam kullanılarak mikro ve nanokapsül lenerek yoğurdun fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada da; kapsül lenenen ekstraktların ilave edilğidi yoğurt örneklerinde pH değeri 4.0'ün üstünde kaldığı bildirilmiştir (Yadav ve ark., 2018).

Amatayakul ve ark. (2006) yoğurtlarda WPC'nin katkı olarak kullanılmasının pH değerinde değişikliğe sebep olabildiği saptanırken; neden olarak peynir altı suyu proteinlerinin içerdiği peptid ve amino asitlerin yoğurt bakterileri gelişiminde kullanılmasından kaynaklandığı belirtmektedir. Ayrıca WPC ilaveli yoğurtların pH değerinin yüksek olmasında, yoğurt mikslarına katılan peynir altı suyu proteinlerinin tampolama kapasitelerinin diğer süt protein katkılarına göre daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Delikanlı, 2012). Çalışmamızdaki nanoenkapsülasyon materyalinde de %40 oranında WPI olduğundan yoğurt örneklerinde pH değeri benzer durum sergilemiştir.

Literatüre paralel olarak çalışma sonumuzdaki yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama süresi sonunda; kontrole (3.76-3.90) göre pH değeri daha yüksek (4.01-4.12) iken asitlik gelişiminde de azalma olduğu gözlemlenmiştir. Yoğurt bakterilerinin WPI ve

glukomannanı ile nanoenkapsüle edilmesi, yoğurdun pH düşüşünü ve asitliğin fazla gelişmesini engellediği sonucuna varılmıştır.

4.5.1.3. Yoğurt örneklerinde su tutma kapasitesi

Nanoenkapsüle kültürün 3 farklı konsantrasyonu ve enkapsüle edilmeyen kültürün kontrol olarak kullanıldığı yoğurt üretiminde 28 günlük depolama boyunca su tutma kapasitesi analiz sonuçları Çizelge 4.17 ve Şekil 4.20’de gösterilmiştir. Su tutma kapasitesi en düşük yoğurt örneği depolamanın 1. gününde A örneğinde (%72.39) iken en yüksek değer depolamanın 28. gününde C yoğurt örneğinde (%88.04) görülmüştür. Depolamanın 1. günü hariç diğer günlerde yapılan analiz sonuçlarına göre nanoenkapsüle kültürle üretilen yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi kontrole göre yüksek bulunmuştur.

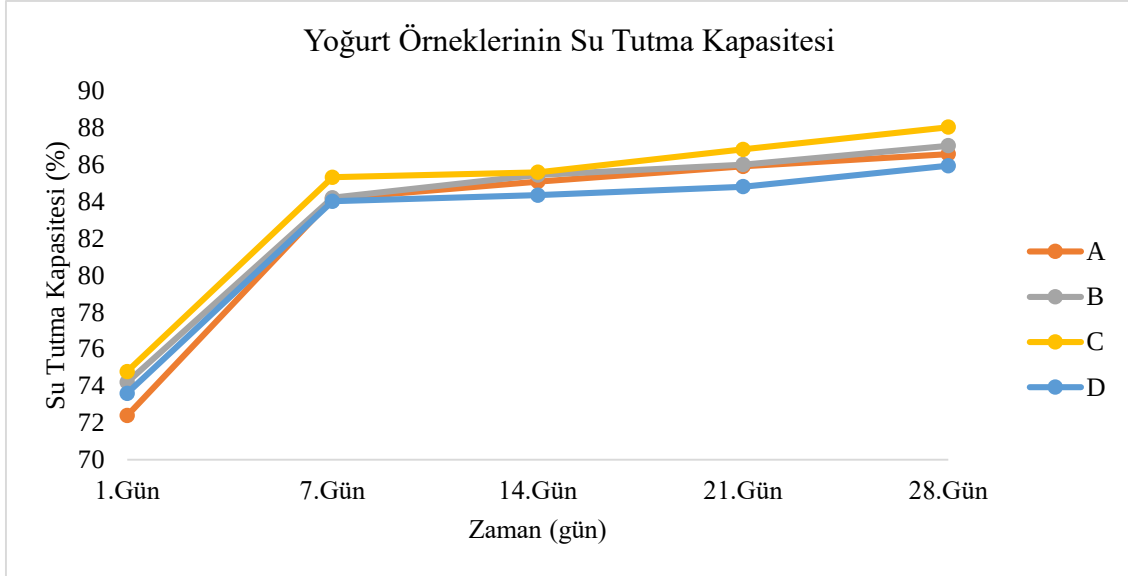
Çizelge 4.17. Yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
Su Tutma Kapasitesi (%)					
A	72.39±0.028 ^{De}	84.16±0.056 ^{Bd}	85.09±0.098 ^{Bc}	85.91±0.155 ^{Bb}	86.58±0.000 ^{ABa}
B	74.20±0.141 ^{Be}	84.21±0.141 ^{Bd}	85.44±0.155 ^{ABc}	86.01±0.000 ^{Bb}	87.03±0.028 ^{ABa}
C	74.78±0.113 ^{Ac}	85.32±0.254 ^{Ab}	85.59±0.000 ^{Ab}	86.83±0.120 ^{Aab}	88.04±1.442 ^{Aa}
D	73.60±0.141 ^{Cd}	84.02±0.014 ^{Bc}	84.35±0.282 ^{Cc}	84.81±0.014 ^{Cb}	85.95±0.042 ^{Ca}

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte su tutma kapasite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

a-e: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince su tutma kapasite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

İstatistiki olarak Çizelge 4.17 incelendiğinde; bütün yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi hem depolama süresince hem de farklı konsantrasyondaki kültürlerle üretilen örnekler arasında önemli (P<0.05) derecede artış göstermiştir.



Şekil 4. 20. Yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi.

Çakmak (2019), inek ve soya sütü karışımından yapılan probiyotik yoğurtların bazı özellikleri üzerine transglutaminaz enziminin etkisini ölçtüğü çalışmada, Transglutaminaz enziminin proteinler arasında çapraz bağlar yapmasıyla yoğurdun fiziksel özelliklerinde iyileşme sağladığını belirtmiştir. Özellikle yağsız süt ile yapılan yoğurtlarda pıhtı sıklığını artırdığını, jelleşmeyi kolaylaştırdığını ve su tutma kapasitesini artırarak sinerezisi azalttığını ifade etmiştir.

Isıl olmayan ultrason ve klasik homojenizatör tekniklerinin uygulandığı sütlerden yapılan yoğurt çalışmasında, su tutma kapasitesi en yüksek %66.18 olarak bulunmuştur (Şengül ve ark., 2009). Peyniraltı suyu konsantratu kullanılarak yapılan yoğurt örneklerinde su tutma kapasitesi %45'ten %63'e kadar çıktığı ifade edilmiştir (Sodini ve ark., 2006). Liu ve ark. (2013) tarafından, yumurta akı proteine farklı oranlarda konjak glukomannanı (%0.01-1.0) katılarak oluşturdukları yumurta akı jelinin jelleşme özellikleri incelenmiştir. Oluşturulan jelin SEM analiz görüntüsünde yumurta akı proteini ile glukamannanın gözenekli bir ağ yapısını oluşturdğu ifade edilmiştir. Glukamannan oranı arttıkça ağ yapısındaki gözeneklerin de çap oranlarında büyüme olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca gözeneklerin sayısı ve çaplarının artmasına bağlı olarak jelin su tutma kapasitesinin de arttığı sonuç olarak ifade edilmiştir.

Peynir altı suyu protein agregaları, gıda sınıfı mikro ve nano ağ yapılarının tasarımı ve geliştirilmesi için "yapı taşları" görevi görmektedir. Gıda endüstrisinde, mikron boyutlu peynir altı suyu proteini agregaları, tekstüre edici maddeler veya yağ

ikame maddeleri olarak hareket edebilen, su alarak şişme davranışına sahip hidrojelleri üretmek için kullanılabilir. Sonuç olarak, peynir altı suyu proteinlerinden yapılan nanoyapılı sistemler birincil amino grupları veya iyonik ve hidrofobik bağlanma yoluyla gıda ürünlerinde bileşenleri konjüge ettiği bildirilmiştir (Ramos ve ark., 2017).

Çalışma sonucumuz literatür ile karşılaştırıldığında yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi oldukça yüksek (%72.39-88.04) bulunmuştur, bunun sebebinin nanoenkapsülasyon materyalindeki WPI (%40) ve glukomannandan (%2) kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5.1.4. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması tayini

Serum ayrılması (Sinerezis), yoğurtta protein ağının suyu tutmaması olarak bilinmekte olup yoğurdun önemli bir kalite parametresidir. Serum ayrılması; yoğurdun KM'si, depolama süresi, depolama sıcaklığı ve mikrobiyal faaliyet durumuna göre değişiklik gösterebilmektedir.

Çizelge 4.18 incelendiğinde, nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerindeki serum ayrılması kontrol grubuna göre başlangıçtan daha düşük ölçülmüştür. Ancak depolanın 28. gününde kontrol grubuna (D) göre A ve B örneklerinde serum ayrılması daha yüksek bulunmuştur.

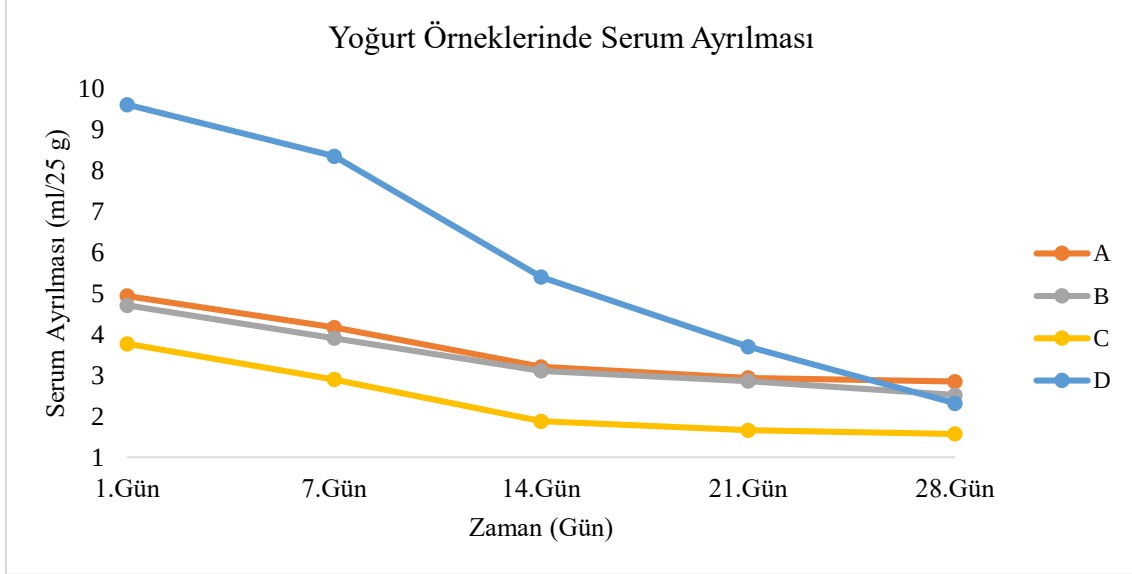
Çizelge 4.18. Yoğurt örneklerinde serum ayrılması değerleri

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	1	7	14	21	28
Serum Ayrılması (ml/25 g)					
A	4.94±0.028 ^{Ba}	4.17±0.028 ^{Bb}	3.21±0.042 ^{Bc}	2.94±0.056 ^{Bd}	2.85±0.070 ^{Ad}
B	4.71±0.014 ^{Ba}	3.91±0.084 ^{Cb}	3.11±0.070 ^{Bc}	2.86±0.056 ^{Bd}	2.52±0.028 ^{Be}
C	3.77±0.098 ^{Ca}	2.90±0.070 ^{Db}	1.88±0.028 ^{Cc}	1.66±0.084 ^{Cd}	1.57±0.028 ^{Dd}
D	9.61±0.155 ^{Aa}	8.35±0.141 ^{Ab}	5.40±0.141 ^{Ac}	3.70±0.070 ^{Ad}	2.32±0.028 ^{Ce}

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte serum ayrılması değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

a-e: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince serum ayrılması değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

İstatistiki olarak; hem gruplar arasında hem de depolama süresince serum ayrılması değerlerinde anlamlı fark olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 21. Yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerleri.

Coşkun ve ark. (2019), farklı oranlarda (%2.0-6.0) çam balı ilavesiyle probiyotik yoğurt üretimi gerçekleştirdikleri çalışmalarında yoğurdun 3 haftalık depolama süresince fizikokimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Serum ayrılması analiz sonuçlarında; katkısız olan kontrol grubu örneklerinde, depolamanın 1. gününde en yüksek serum ayrılması (%52) gözlemlenirken, %6.0 çam balı ilaveli yoğurt örneğinde en düşük değerler ölçülmüştür. 21 günlük depolama sonucunda da genel olarak tüm örneklerin serum ayrılma değerlerinde azalma olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde Ayaz (2021), probiyotik yoğurt üretiminde bal ilavesinin probiyotik canlılığa ve yoğurdun fizikokimyasal özelliklerine etkisini çalışmıştır. Çalışmada; probiyotik olarak *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* BB-12 bakterileri ticari yoğurt kültürüne eklenerek farklı gruplar oluşturulmuştur. Ayrıca bu farklı gruplara da %5.0-7.0 oranında bal ilave edilmiştir. 21 günlük depolama süresince yapılan fizikokimyasal analiz sonuçlarında, başlangıca göre 7. günde serum ayrılması artarken 21 günün sonunda bütün gruplarda azalma olmuştur. Yine kuru dut ve ceviz ezmesinin (Gobdin) probiyotik yoğurtlara ilave edilerek yoğurdun fonksiyonelliğinin araştırıldığı bir çalışmada (Çakmakçı, 2016), serum ayrılması değerlerinde, Gobdin miktarının artmasıyla azalma gözlemlendiği belirtilmiştir. Yoğurtlara transglutaminaz enziminin

ilave edildiği bir başka çalışmada ise (Çakmak, 2019), üretilen yoğurt örneklerinin serum ayrılması değerleri depolama boyunca %40.11-47.08 aralığında değişmiştir. Transglutaminaz enziminin miktarı artıkça serum ayrılmasında azalma gözlemlenmiştir.

Süt tozu, peyniraltı suyu izolatu veya inülin ile kurumaddesi arttırılan ve kalsiyum klorür eklenen sütlerden üretilen probiyotik yoğurtların bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada üretilen yoğurt örnekleri 30 gün buzdolabında depolanmıştır. Yoğurt örneklerinin serum ayrılma değerleri %39.82-73.47 aralığında değişim göstermiştir. Serum ayrılması en fazla WPI ilaveli yoğurt örneğinde olurken en az serum ayrılması inülin katkılı yoğurt örneğinde gözlemlenmiştir. Genel olarak depolama boyunca serum ayrılmasında artış (%57-64) görülmüştür (Ergin, 2022).

Yapılan çalışmalarla kıyaslandığında bulgularımızın literatür ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak WPI ilaveli yoğurt örneklerinde depolama boyunca serum ayrılması artarken çalışmamızda serum ayrılması depolama boyunca azalış göstermiştir. Sebep olarak WPI ve salep glukomannanının birlikte kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5.1.5. Yoğurt örneklerinin viskozite tayini

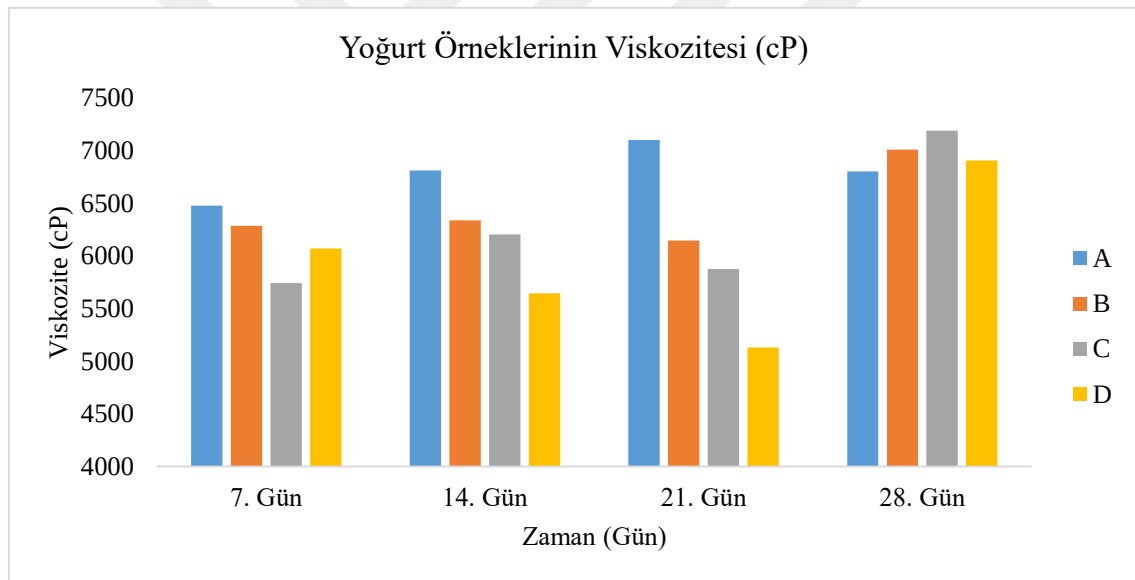
Yapılan çalışmada yoğurt örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 4.19 ve Şekil 4.22’de verilmiştir. Çalışmamızda genel olarak nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinde viskozite son haftaya kadar artmış ancak son haftada dalgalanmalar görülmüştür. Aynı depolama süresi içinde de farklı konsantrasyondaki nanoenkapsüle örnekler arasında farklılıklar görülmesine rağmen ($P<0.05$) genel olarak bu değerler kontrol örneğine göre yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum da nanoenkapsülasyonda kullanılan salep ve peyniraltı suyundan kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.19. Yoğurt örneklerinin viskozite analiz sonuçları

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)			
	7	14	21	28
Yoğurt Örneklerinin Viskozitesi (cP)				
A	6476.67±0.282 ^{Ac}	6811.67±0.424 ^{Ab}	7100±14.142 ^{Aa}	6803.33±4.242 ^{Db}
B	6286.67±0.098 ^{Bc}	6338.33±3.295 ^{Bb}	6145±7.071 ^{Bd}	7008.33±3.295 ^{Ba}
C	5743.33±4.242 ^{Dd}	6205±2.828 ^{Cb}	5875±4.242 ^{Cc}	7190±2.828 ^{Aa}
D	6071.67±0.424 ^{Cb}	5643.33±0.947 ^{Dc}	5130±7.071 ^{Dd}	6905±4.242 ^{Ca}

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P<0.05$).

a-c: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P<0.05$).



Şekil 4. 22. Yoğurt örneklerinin viskozite analiz sonuçları.

Çalışmamıza benzer şekilde yoğurtta maltodekstrin ve transglütaminaz enzim kullanımının yoğurdun yapısal ve duyuşal özelliklerine etkisinin incelendiği bir çalışmada da her iki maddenin viskoziteyi artırdığı ancak depolama süresince küçük dalgalanmaların olduğu ifade edilmiştir (Erman, 2019). Zenginleştirilmiş yoğurt üretiminde yağsız süt tozu yerine peyniraltı suyu ve yayıkaltı suyu tozunun kullanıldığı çalışmada da viskozite değerlerinde dalgalanma olmakla birlikte başlangıç değerine göre depolama sonunda azalış gözlemlenmiştir (Bakırcı, 2016). Ergin, (2022) tarafından kurumaddesini artırmak için süte; süt tozu, inülin, peyniraltı suyu protein izolatu ve

kalsiyum klorür katılarak yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Yoğurdun fizikokimyasal özelliklerinden viskozite değeri; peyniraltı suyu protein izolatu katılan örnekte, inülin ve süt tozu katılan yoğurt örneklerine göre oldukça yüksek bulunmuştur. Sebep olarak peyniraltı suyu protein izolatının protein oranının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Üzüm çekirdeği ekstralarının peyniraltı suyu protein konsantresi ve guar gam kullanılarak mikro ve nanokapsüllenerek yoğurdun fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada da; kapsüllenenen ekstraların ilave edildiği yoğurt örneklerinde kontrole göre depolama sonuna viskozite değerinin arttığı ifade edilmiştir (Yadav ve ark., 2018).

Peynir altı suyu proteini nano nanomalzemeler olarak uygulamaları hakkında çok az çalışma mevcuttur. Bununla birlikte, bu yapıların, gıdaların besin değerlerini arttırırken potansiyel olarak koyulaştırıcı, jelleştirici, emülsifiye edici veya köpürtücü bileşenler olarak işlev görebileceği kabul edilmektedir. Son zamanlarda peynir altı suyu proteinin nano malzeme olarak; enzim immobilizasyonu, biyoaktif bileşenlerin nano ve mikroenkapsülasyonu ve hatta biyosensörlerin geliştirilmesi gibi diğer potansiyel uygulamaları, gıda ve biyomedikal endüstrilerinden büyük ilgi görmüştür (Ramos ve ark., 2017). Benzer şekilde çalışmamızda da yoğurt bakterilerinin nanoenkapsülasyonu %40 WPI ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca nanoenkapsülasyonda salep glukomannanı kullanılarak oluşturulan yapının viskozitesi artırılmıştır. Sonuç olarak; örneklerimizdeki viskozite değerlerinin de başlangıç durumuna göre depolama sonunda artış göstermesi WPI ve glukomannandan kaynaklanmış olabileceğini göstermektedir.

4.5.1.6. Yoğurt örneklerinin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları

Yoğurdun yapısal en önemli kalite parametrelerinden biri olan Tekstür Profil Analizi (TPA); sertlik, yüzey yapışkanlığı, iç yapışkanlık, sakızimsılık ve esneklik gibi farklı şekillerde uygulanan kuvvete karşı ortaya çıkan direnç olarak alt gruplara ayrılmaktadır. Yapılan yoğurt örneklerinin TPA analiz sonuçları Çizelge 4.20’de verilirken Şekil 4.23-4.27’de de grafiksel olarak değişimleri sergilenmiştir.

Çizelge 4.20. Yoğurt örneklerinin TPA analiz sonuçları

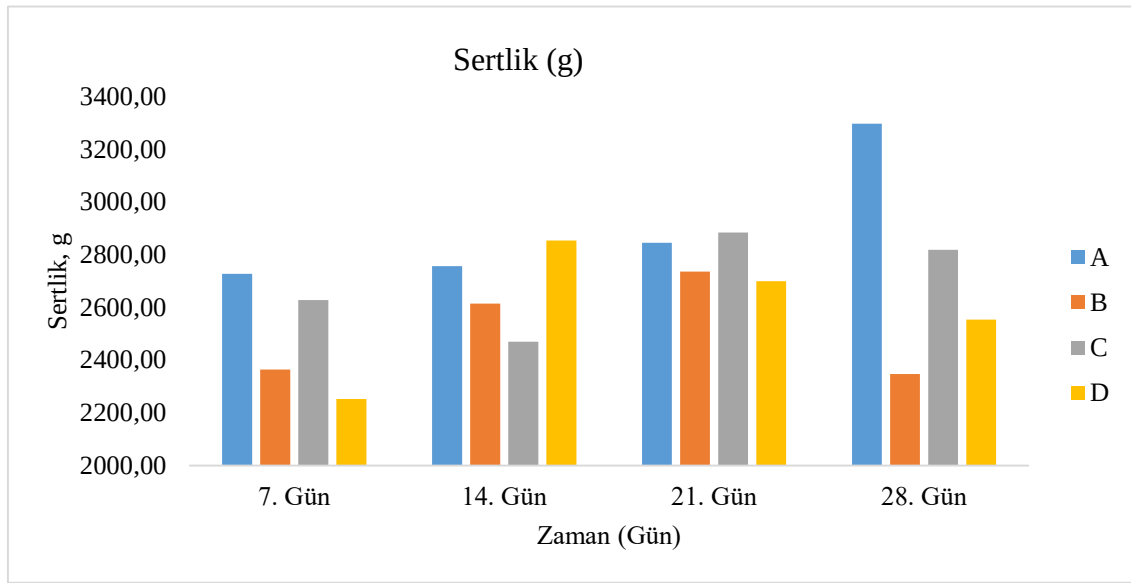
Depolama Süre (Gün)	Yoğurt Örnekleri			
	A	B	C	D
Sertlik (g)				
7	2528.33±138.11 ^{Aa}	2364.56±145.44 ^{Ba}	2427.67±114.33 ^{Aa}	2252.67±52.2 ^{Bb}
14	2757.33±112.43 ^{Aa}	2614.89±113.33 ^{Aa}	2669.45±54.11 ^{Aa}	2853.67±74.1 ^{Aa}
21	2845.85±362.06 ^{Aa}	2736.15±358.39 ^{Aa}	2884.22±445.39 ^{Aa}	2699.5±280.3 ^{Aab}
28	2797.56±544.23 ^{Aa}	2446.96±181.45 ^{Aa}	2718.37±708.05 ^{Aa}	2553.9±435.1 ^{Aab}
Ort.	2662.95	2405.76	2573.02	2403.29
Yüzey Yapışkanlığı (g.sec)				
7	330.68±3.44 ^{Ba}	277.57±24.12 ^{BCb}	471.85±58.32 ^{Aa}	224.15±12.99 ^{Cc}
14	128.91±3.94 ^{Cb}	307.89±35.42 ^{Ab}	240.36±47.28 ^{Bb}	354.60±17.90 ^{Aa}
21	430.90±132.37 ^{ABa}	400.94±25.62 ^{ABa}	514.49±36.30 ^{Aa}	367.10±16.69 ^{Ba}
28	115.30±12.38 ^{Cb}	215.88±21.56 ^{Bc}	206.26±54.26 ^{Bb}	319.34±17.41 ^{Ab}
Ort.	251.45	300.57	358.24	316.30
İç Yapışkanlık				
7	21.17±0.32 ^{Cb}	28.34±0.20 ^{Bb}	30.36±0.01 ^{Aa}	21.18±1.31 ^{Cb}
14	17.07±0.54 ^{Cc}	21.00±0.50 ^{Bd}	20.73±0.47 ^{Bb}	29.44±0.78 ^{Aa}
21	25.96±2.15 ^{Ba}	32.24±1.90 ^{Aa}	30.06±0.99 ^{Aa}	30.37±1.42 ^{Aa}
28	20.70±1.89 ^{Cb}	24.49±0.35 ^{Bc}	27.08±5.12 ^{ABa}	30.48±1.40 ^{Aa}
Ort.	21.23	26.52	27.06	27.87
Sakızimsılık				
7	14.60±0.02 ^{Ab}	13.72±0.83 ^{Aa}	13.68±0.76 ^{Aa}	13.95±0.00 ^{Ab}
14	16.01±1.84 ^{Aa}	14.43±0.76 ^{Ca}	14.73±0.11 ^{Ca}	17.01±0.16 ^{Ba}
21	13.32±1.61 ^{Ab}	15.16±2.26 ^{Aa}	15.39±2.66 ^{Aa}	16.43±1.89 ^{Aab}
28	14.61±3.35 ^{Ab}	14.50±1.13 ^{Aa}	15.37±2.19 ^{Aa}	15.21±2.24 ^{Aab}
Ort.	14.64	14.45	14.79	15.65
Esneklik				
7	62.01±1.11 ^{Cc}	74.51±1.23 ^{Bb}	87.75±2.35 ^{Aa}	53.34±2.35 ^{Db}
14	64.11±1.48 ^{Bc}	59.78±1.11 ^{Cc}	54.33±0.12 ^{Dc}	78.22±3.96 ^{Aa}
21	80.94±3.43 ^{BCa}	88.70±5.43 ^{Aa}	85.81±0.51 ^{ABa}	76.98±1.30 ^{Ca}
28	68.81±1.73 ^{BCb}	60.97±1.24 ^{Cc}	75.08±8.16 ^{ABb}	77.31±1.22 ^{Aa}
Ort.	68.97	70.99	75.74	71.46

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örneklerin TPA ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

a-d: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince TPA ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir (P<0.05).

Sertlik, gıdayı ilk sıkıştırdığımızda uygulanan gücün ölçüsü olarak tanımlanmaktadır. Sertlik değerini yoğurdun yapıldığı sütün bileşimi, kurumadde miktarı ve yoğurt sütüne uygulanan ön işlemler değiştirebilmektedir.

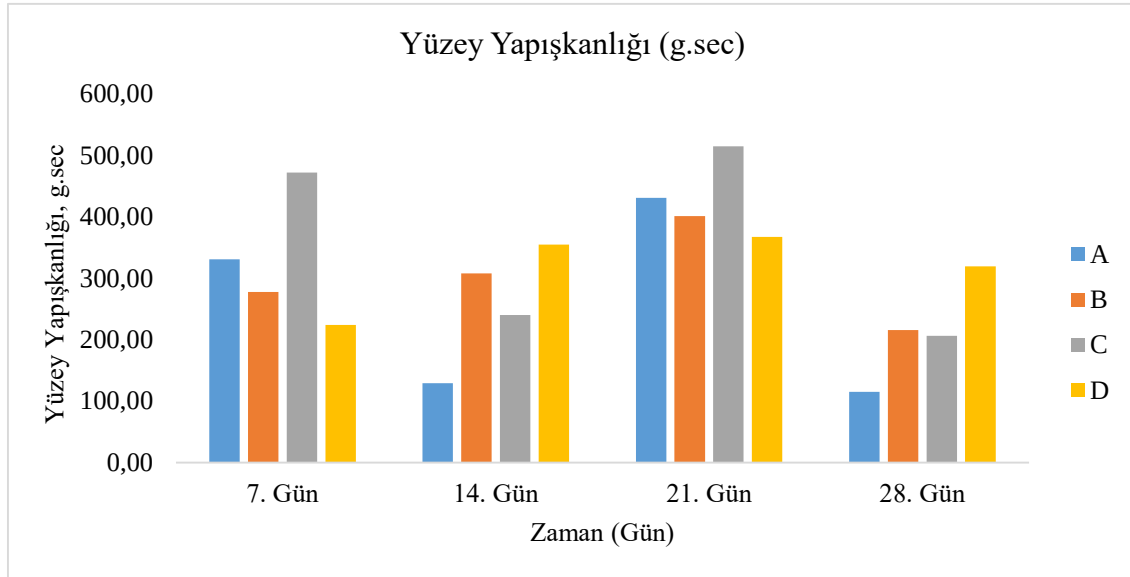
Çalışma sonucumuz incelendiğinde bütün örneklerde depolamanın başlangıcına göre sertlik değerleri ilk üç hafta artmış fakat son hafta ufak bir düşüş göstermiştir. Sertlik değerlerinde kontrolün en yüksek olduğu 2. hafta iken nanoenkapsüle kültür ilaveli örneklerde en yüksek değere 3. hafta da ulaşılmıştır.



Şekil 4. 23. Yoğurt örneklerinin sertlik analiz sonucu.

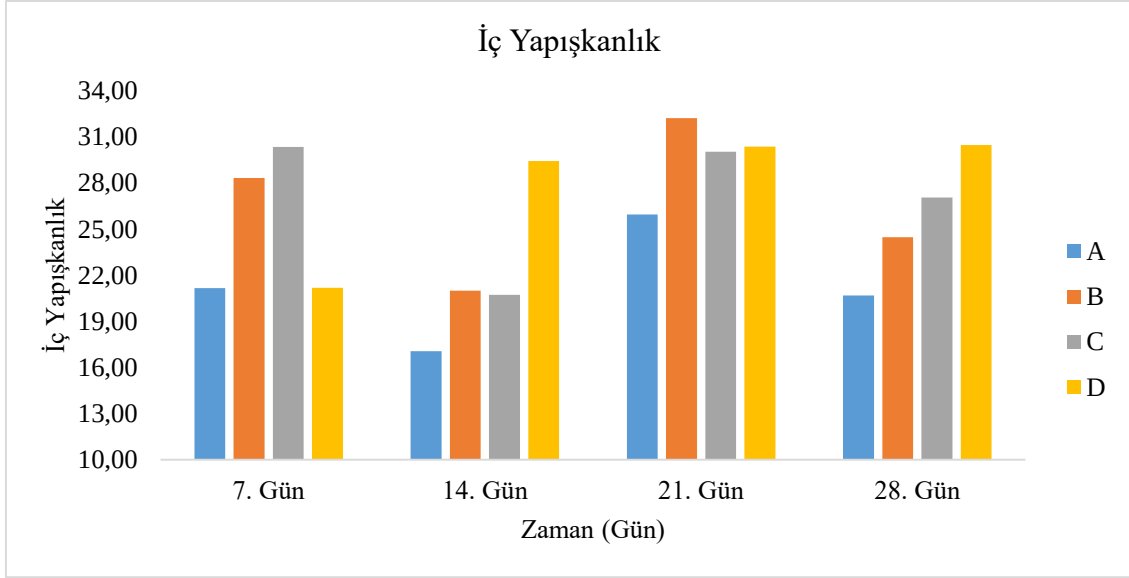
Toksöz (2010), keten tohumu protein konsantresini farklı oranlarda (%0.25-0.50) süte ilave ederek oluşturduğu yoğurdun bazı özelliklerini incelemiştir. Keten tohumu protein konsantresi yoğurdun sertlik değerinde kontrole (3.21 N) göre oldukça artışa (3.42 N) sebep olmuş ancak %0.25'ten sonraki ilave teken tohumu proteini sertlik değerinde azalış (2.94 N) göstermiştir. Benzer şekilde Bulut (2020), bazı bitki ekstraktlarını (nane, yeşil çay, kekik ve üzüm) kullanarak ürettiği yoğurdun çeşitli özelliklerini incelemiştir. Üretilen yoğurtlarda sertliğin 21 günlük depolama süresince kontrole göre arttığı ifade edilmiştir. Çalışmamızda da literatür ile doğru orantılı olarak sertlik değerlerinde nanokapsüle materyallerin yoğurdun kurumadde miktarını artırmasından kaynaklı artış söz konusu olmuştur.

Yüzey yapışkanlığı, gıdanın bir yüzeye tutunmasına karşılık gelen negatif kuvvet iken iç yapışkanlık gıdanın kendi içerisinde birbirine tutunmasına uygulanan kuvvet olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 4. 24. Yoğurt örneklerinin yüzey yapışkanlığı analiz sonucu.

Şekil 4.25 ve 4.26 incelendiğinde nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin yüzey ve iç yapışkanlığı da başlangıçta artmış ve depolamanın sonunda düşüş göstermiştir. En yüksek değerler depolama süresi olarak 3. haftada görülürken, örnek bazında C (%2) örneğinde belirlenmiştir. Yoğurda ilave edilen maddelerin genellikle yüzey ve iç yapışkanlığı artırdığı bilindiğinden C örneğinde böyle bir durumun belirlenmesi doğal kabul edilip literatür ile de uyum içindedir. Nitekim Mudgil ve ark. (2017), kısmen hidrolize guar gam kullanarak (%1.0-5.0) ürettikleri zenginleştirilmiş yoğurt örneklerinde guar gam ilavesinin arttıkça iç ve yüzey yapışkanlığını artırdığını ifade etmişlerdir.

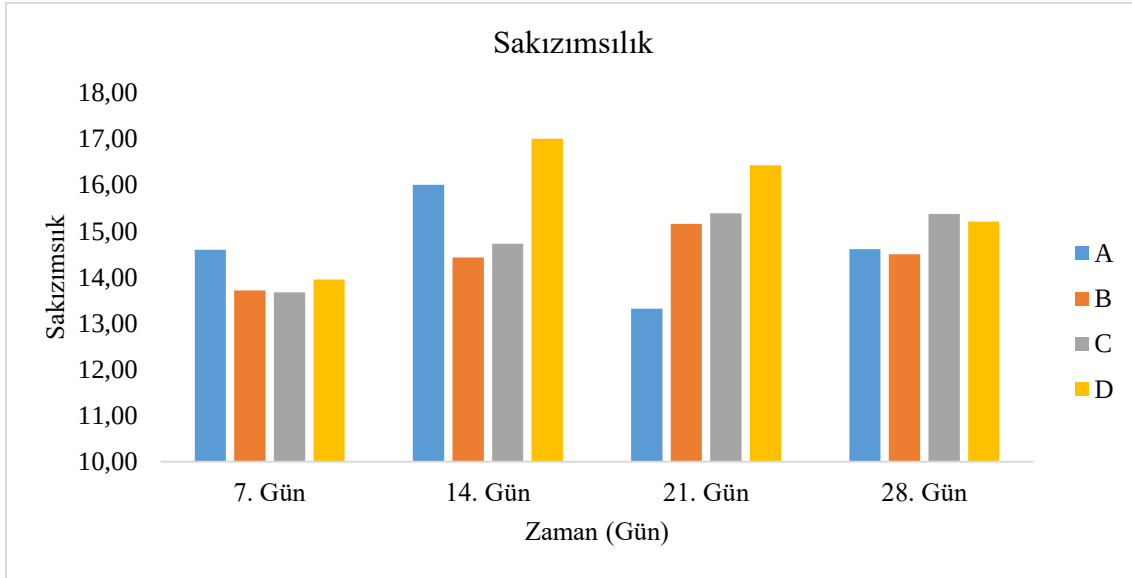


Şekil 4. 25. Yoğurt örneklerinin iç yapışkanlık analiz sonucu.

Farklı yoğurt kültür kombinasyonlarının kullanıldığı başka bir çalışmada, bazı kültürlerin yoğurt iç yapışkanlığını depolama boyunca artırtırken bazı kültürlerin de başlangıca göre önce artırıp sonra düşürdüğü ifade edilmiştir (Ecem ve ark., 2021). Çalışma sonucumuzdaki iç yapışkanlık değerlerinde de önce artış sonra azalış şeklinde dalgalanma gerçekleşirken genel ortalama değerlerine göre nanoenkapsüle ilaveli yoğurt örneklerinde hem iç yapışkanlık hem de yüzey yapışkanlığında artış gözlemlenmiştir.

Sakızımsılık, sertlik ve iç yapışkanlık değerlerinin çarpımıyla elde edilen yoğurdun iç bağlarının birbirine uyguladığı kuvvetten oluşan bir parametredir. Yoğurt üretiminde kullanılan maddeye göre yoğurt sakızımsılık değeri değişiklik göstermektedir.

Şekil 4.27 incelendiğinde yaptığımız yoğurt örneklerinin hepsinde depolama boyunca sakızımsılık değerlerinde başlangıç durumuna göre artış gözlemlenmiştir.

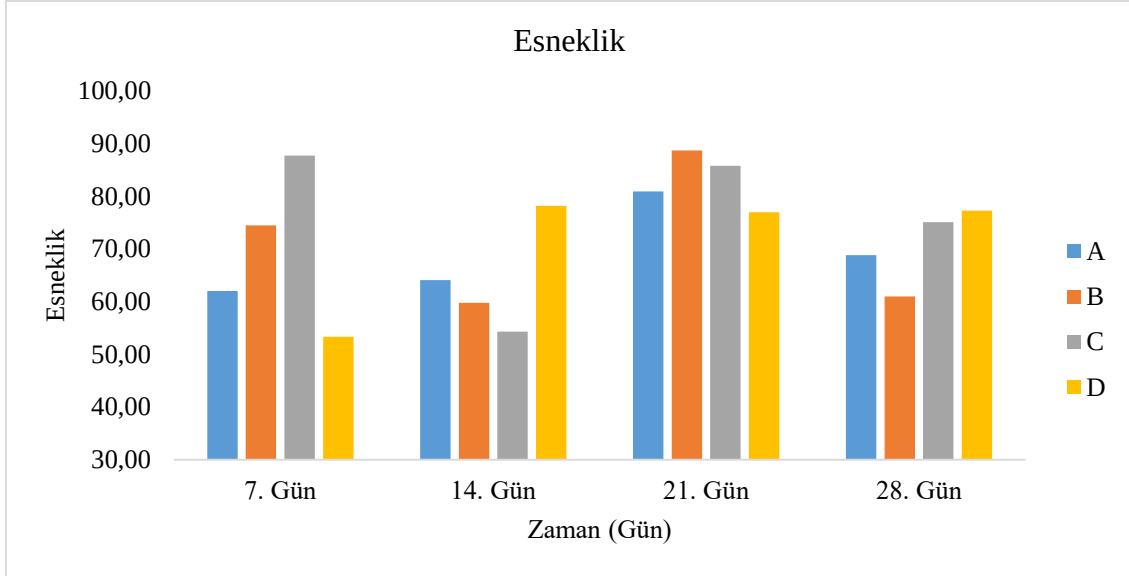


Şekil 4. 26. Yoğurt örneklerinin sakızimsılık analiz sonucu.

Mudgil ve ark. (2017), kısmen hidrolize guar gam kullanarak ürettiği yoğurtta sakızimsılık değeri depolama boyunca düşerken, başka bir çalışmada çam balı ilaveli yoğurt üretiminde depolama boyunca sakızimsılık değerinde artış gözlemlenmiştir (Ayaz, 2020).

Çalışma sonucumuz literatür ile karşılaştırıldığında, depolama boyunca sakızimsılık değerinde artış görülmesine rağmen genel ortalama sonucuna göre nanoenkapsüle kültür ilaveli yoğurt örneklerinde sakızimsılık değeri kontrol örneğine göre düşük kalmıştır. İstatistiki olarak örnekler arasındaki artış $P < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Esneklik, bir gıdaya uygulanan kuvvetin oluşturduğu deformasyonun kuvvet ortadan kalktıktan sonra gıdanın ne kadar eski haline dönebildiğinin bir ölçüsüdür. Şekil 4.28 incelendiğinde kontrol grubu yoğurt örneklerinde esneklik depolama boyunca artarken nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinde depolamanın ilk 3 haftasında artış, son haftada ise azalış gözlemlenmiştir. Genel ortalama dikkate alındığında kontrol grubuna göre en yüksek konsantrasyonda (%2) nanoenkapsüle bakterinin kullanıldığı örneklerin (C) esnekliği çok daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 4. 27. Yoğurt örneklerinin esneklik analiz sonucu.

Kısmen hidrolize guar gam kullanarak yapılan bir çalışmada da yoğurt örneklerinde depolama boyunca esneklik artış göstermiştir (Mudgil ve ark., 2017). Ayaz (2020), tarafından yapılan çam balı katkılı yoğurt üretiminde ise depolama boyunca bazı örneklerde esneklik değerinde azalış olurken bazılarında artış gözlemlenmiştir.

Çalışmamız genel ortalamaya göre değerlendirildiğinde nanoenkapsüle kültür oranı arttıkça esneklik değerlerinde de artışa sebep olduğu görülmektedir.

Delikanlı (2012) tarafından, süt proteini katkılarıyla zenginleştirilen yoğurtların tekstürel özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada; peyniraltı suyu konsantratu, peyniraltı suyu protein izolatu ve peyniraltı suyu proteini hidrolizatu kullanılmıştır. 14 günlük depolama sırasında her hafta periyodik analizleri yapılmıştır. Tekstürel olarak protein katkılarının yoğurtta daha sıkı ve güçlü bir jel yapısı oluşturarak; yoğurdun sertliğini, sertliğe bağlı olarak da iç yapışkanlık ve esneklik değerlerini artırdığı ifade edilmiştir. Diğer taraftan iç yapışkanlık değerlerinde, çalışmamızda da görüldüğü gibi başlangıç seviyesine göre önce artış sonrasında düşüş şeklinde dalgalanmalar tespit edilmiştir.

Çalışmamızda TPA analiz sonuçlarımız genel olarak değerlendirildiğinde; yerel yoğurt örneklerinden elde edilen starter kültürün, WPI ve salep glukomannanını ile nanoenkapsüle edilerek farklı konsantrasyonlardaki kullanımıyla üretilen yoğurt örneklerinin analiz sonuçları literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.5.1.7. Yoğurt örneklerinin uçucu aroma profilinin belirlenmesi

Tat ve aroma, yoğurdun duyuşsal özelliklerini belirleyen önemli bir kalite ölçüşü olarak bilinmektedir. Yoğurt bakterileri (*Str. thermophilus* ve *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*) sütteki yağ, protein ve laktozu kullanarak tat ve aromanın oluşmasını sağlamaktadır (Köse ve Ocak, 2014). Yapılan çalışmalarda yoğurdun aromasını oluşturan, yaklaşık 100 kadar aroma bileşiği tanımlanmıştır. Yoğurttaki bileşen türü ve miktarının; kullanılan süütün türüne (inek, koyun, keçi, manda vb.), süte uygulanan teknolojik işlemlere, yoğurdun depolama koşullarına, üretilen farklı özellikteki yoğurt tipine ve fermentasyonda kullanılan kültür çeşitliliğine göre değişiklik gösterebildiği ifade edilmiştir (Çelik, 2020). Ancak yoğurdun kendine has tipik aromasını; pürivik, oksalik ve süksinik gibi uçucu olmayan asitler ile asetaldehit, aseton, asetoin ve diasetil gibi karbonilli bileşiklerin oluşturduğu bilinmektedir (Bulut, 2020). Yoğurt oluşumu sırasında temel uçucu bileşen olan asetaldehit en fazla üretilmektedir. Asetaldehitin tek başına veya diğer aroma bileşenlerine oranı yoğurt için bir kalite faktörü olarak kabul edilmektedir. Asetaldehitin inkübasyon boyunca artarken depolama süresince azaldiğı ifade edilmiştir (Köse ve Ocak, 2014; Çelik, 2020).

Çalışmamızdaki üretilen yoğurt örneklerinde toplam 46 bileşen tespit edilmiştir. Bunlar; 2 aldehit (Acetaldehyde, Benzaldehyde), 18 asit (Acetoacetic acid, Benzoic acid, Carbamic acid, Succinamic acid, Acetic acid, Propanoic acid, Benzenebutanoic acid, Hexanedioic acid, Silicic acid, 2-Hexynoic acid, 2-Thiopheneacetic acid, Benzeneacetic acid, Butanoic acid, Benzenepropanoic acid, Carbonic acid, Ethanedioic acid, Chloroacetic acid, Formic acid), 8 alkol (Ethanol, Methanol, 1-Butanol 3-methyl, Benzenemethanol, 5-ethyl-2-heptanol, 2-Heptanol 6-methyl, Silanediol, Galactitol), 5 ester (Ethyl Acetate, Hexadecanoic acid 3-propyl ester, Acetic acid ethyl ester, Carbamic acid ethyl ester, Octadecanoic acid methyl ester), 9 keton (2-Heptanone, Acetone, 2-Butanone (Asetoin), 2-Nonene, 2-Pentanone, 9-Heptadecanone, Octadecane, Butanal, 2-Nonanone) ve laktozun parçalanma ara ürünü olan D-Galactose'dan oluşmaktadır. Ayrıca salep kaynaklı olduğu düşünölen 4 bileşen de (Cyclopentasiloxane, Cyclohexasiloxane, Cyclohexane, Dihydroxymaleic acid) tespit edilmiştir. Yoğurt örnekleri aroma profili analiz sonuçları Çizelge 4.21'de gösterilmiştir.

Nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurt örneklerinde asetaldehit miktarı 1.680-46.101 mg/kg aralığında iken kontrol grubunda asetaldehit miktarı 1.281-11.575 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. En yüksek asetaldehit üretimi (46.101 mg/kg) C örneğinde depolamanın 3. haftasında iken en düşük asetaldehit değeri (1.680 mg/kg) depolamanın 5. haftasında A örneğinde ölçülmüştür.

Tamime ve Rabinson'a göre ideal bir yoğurtta istenen aromanın oluşması için asetaldehit miktarının 23-41 ppm seviyesinde olması gerektiği ifade edilmiştir (2007). Tian ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada da, yoğurtta aroma yoğunluğu ve asetaldehit konsantrasyonu elektronik burun kullanılarak optimize edilmiştir. Çalışma sonucunda aromatik yoğurt oluşumu için asetaldehit oranının 25.9-35.5 ppm aralığında olması gerektiği vurgulanmıştır.

Farklı yoğurt starter kültürlerin kullanımı, farklı miktarda asetaldehit üretimine sebep olurken sütün kurumaddesinin yüksek olması da asetaldehit üretimini artırdığı ifade edilmiştir. Asetaldehit miktarının inkübasyon süresince artıp, depolama süresi boyunca azaldığı bildirilmiştir (Yılmaz, 2006). Yoğurtlarda asetaldehit üretimi pH 5.2'de başlamakta, pH 4.2'de en yüksek değere ulaşmakta ve pH değeri 4 olduğunda dengeli hale gelmektedir (Tamime ve Rabinson, 2001). Çalışma sonucumuzda asetaldehit miktarının ilk haftalarda yüksek olmasının sebebi; yoğurt örneklerindeki pH seviyesinin (4.01-4.2) asetaldehit üretimi için en uygun aralık olmasıyla açıklanabilirken son haftalardaki düşüş asetaldehitin farklı aromatik bileşenlere parçalanmasıyla yorumlanmaktadır. Kontrol örneğindeki asetaldehit miktarının düşük olması ise pH değerinin asetaldehit üretimi için yeterince elverişli olmaması olarak düşünülmektedir. Ayrıca nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurtlarda canlı bakteri sayısının kontrol grubuna göre yüksek olması da asetaldehit miktarının kontrol örneğinden fazla olmasına neden olmaktadır.

Az yağlı manda sütüne, peynir altı suyu protein konsantresi ve kalsiyum kazeinat ilave edilerek zenginleştirilmiş yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen yoğurt örnekleri buzdolabı şartlarında 21 gün depolanarak mikrobiyolojik ve fizikokimyasal yönden analiz edilmiştir. Aroma oluşumunun belirlenmesinde 36 uçucu bileşen tespit edilmiş olup bütün örneklerde asetaldehit miktarı 1. gün yaklaşık 20mg/100g olarak bulunurken depolamanın 21. gününde hiç tespit edilememiştir (Barakat ve ark., 2021). Çalışmamızda da nanoenkapsüle edilen yoğurt örneklerinde asetaldehit üretimi ilk iki

hafta yüksek seviyelere (Çizelge 4.21) çıkıp depolama süresi sonunda düşüş göstermiştir. Bu durum çalışmamızın literatür ile paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır.



Çizelge 4.21. Üretilen yoğurtların aroma profil sonuçları

Yoğurt Örnekleri	Bileşen Adı	Depolama Süresi (Gün)		
		1	14	28
		Oransal Miktar (mg/kg)		
A	Acetaldehyde	4.109	15.066	1.680
	Ethanol	-	-	21.773
	Acetone	-	1.121	0.684
	Pentanal	-	-	0.605
	Butanoic acid	-	-	0.676
	1-Butanol 3-methyl	-	-	30.578
	1-Hexanol	-	-	30.504
	Silenediol	1.942	-	-
	2-Heptanone	1.093	0.509	0.504
	5-ethyl-2-heptanol	1.112	-	-
	Acetoacetic acid	0.577	-	-
	Benzaldehyde	-	-	0.692
	2-Octanol	10.000	10.000	10.000
	Carbonic acid	-	-	0.611
	Pentasiloxane	-	-	0.498
	Octadecane	-	-	0.539
	Benzene	-	-	0.547
	Benzeneacetic acid	-	-	1.423
	Galactitol	-	-	0.558
	Cyclopentasiloxane	1.714	-	-
	Benzenemethanol	0.743	-	-
	Cyclohexasiloxane	0.777	-	-
	Cyclohexane	1.594	-	-
	Dodecane	1.409	-	-
	Benzene	1.158	-	-
	Benzoic acid	0.363	-	-

Çizelge 4.21. Üretilen yoğurtların aroma profil sonuçları (devamı)

Yoğurt Örnekleri	Bileşen Adı	Depolama Süresi (Gün)		
		1	14	28
		Oransal Miktar (mg/kg)		
B	Acetaldehyde	23.556	39.389	2.903
	Acetone	1.921	-	-
	2-Butanone (Acetoin)	-	3.923	-
	Butanal	-	-	0.836
	Formic acid	-	-	0.991
	1-Hexanol	-	-	1.276
	Ethyl Acetate	3.897	-	-
	2-Heptanone	-	1.727	1.173
	1-Undecanol	-	-	0.863
	2-Octanol	10.00	10.00	10.00
	2-Heptanol 6-methyl	13.146	-	-
	Carbamic acid	0.707	-	1.080
	2-Hexynoic acid	-	0.288	-
	Benzyl Alcohol	-	-	3.961
	Cyclopentasiloxane	-	0.271	-
	Octadecane	-	0.480	0.930
	Cyclohexasiloxane	-	0.269	1.273
	2-Thiopheneacetic acid	-	0.352	-
	Benzeneacetic acid	-	0.466	-
	Butanoic acid	-	0.397	-
	Pentasiloxane	-	0.296	-
	Hexadecane	1.231	-	-
	Benzene	-	1.047	-
	Benzenepropanoic acid	-	0.511	-
	Benzeneacetic acid	-	0.745	-
	Hexadecanoic acid methyl ester	-	0.000	1.674

Çizelge 4.21. Üretilen yoğurtların aroma profil sonuçları (devamı)

Yoğurt Örnekleri	Bileşen Adı	Depolama Süresi (Gün)		
		1	14	28
		Oransal Miktar (mg/kg)		
C	Acetaldehyde	39.049	46.101	1.90
	Ethanol	0.930	-	3.192
	Methanol		0.615	-
	Acetone	0.913	0.370	0.550
	Dihydroxymaleic acid		0.515	-
	2-Butanone (Acetoin)	2.054	4.455	-
	2-Nonene	0.763	-	0.287
	1-Butanol 3-methyl		-	2.422
	Succinamic acid	0.117	-	-
	1-Hexanol	-	-	2.230
	Silanediol	-	0.00	-
	2-Pentanone	0.212	1.220	0.722
	Ethyl Acetate	0.157	-	-
	2-Heptanone	1.716	-	-
	Acetic acid	1.464	-	-
	Propanoic acid	0.392	-	-
	Benzaldehyde	0.177	-	3.727
	Benzyl Alcohol	-	-	0.529
	2-Octanol	10.00	10.00	10.00
	Carbonic acid	0.456	1.052	-
	Pentasiloxane		0.890	-
	Benzenebutanoic acid	0.641	-	-
	Hexanedioic acid	0.244	-	-
	Cyclotetrasiloxane	0.373	-	0.237
	Cyclopentasiloxane	1.898	1.805	0.607
	Cyclohexasiloxane	-	-	0.317
	Silicic acid	0.430	-	-
	L-Proline	-	-	0.354
	d-Galactose	-	-	0.399

Çizelge 4.21. Üretilen yoğurtların aroma profil sonuçları (devamı)

Yoğurt Örnekleri	Bileşen Adı	Depolama Süresi (Gün)		
		1	14	28
		Oransal Miktar (mg/kg)		
D	Acetaldehyde	1.281	11.571	8.465
	Ethanedioic acid	-	5.748	-
	Ethanol	-	-	0.468
	Acetone	-	26.479	0.855
	Acetic acid ethyl ester	-		0.408
	2-Butanone (Acetoin)	-	3.299	0.262
	2-Pentanone	0.780	-	-
	2-Heptanone	1.111	7.641	1.036
	Acetic acid	-	3.820	0.465
	Carbamic acid ethyl ester	-	-	0.309
	Octadecanoic acid methyl ester	-	-	0.373
	Chloroacetic acid	-	4.007	-
	Hexadecanoic acid 3-propyl ester	-	19.174	-
	Octanedioic acid	-	7.236	-
	Octanoic acid	-	9.363	-

Çelik (2020), geleneksel yoğurtlardan antimikrobiyal aktiviteli laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve yoğurt kalitesi üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; yaklaşık 80 adet yoğurt aroma bileşeni tespit edilmiştir. Bunların bir kısmı kontaminasyon kaynaklı olup sadece 17 bileşen yoğurt aroması değerlendirmesinde kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan yoğurt; inek, manda ve her ikisinin sütleri karıştırılarak yapılmıştır. Yapılan yoğurt örneklerinde asetaldehit miktarı %0.20-4.03 aralığında değişim gösterirken manda yoğurtlarında asetaldehit miktarı nispeten daha yüksek bulunmuştur.

Okuklu (2014), Urla bölgesinde doğal yoğurt starter suşlarını araştırdığı çalışmasında topladığı yoğurt örneklerinin aroma profili sonuçlarını değerlendirmiştir. Bu çalışmaya göre, asetaldehit değerleri 5.61-15.38 mg/L arasında değişiklik gösterirken

aseton değerleri de 0.25-0.36 mg/L aralığında değişim göstermiştir. Çalışma sonucumuzda da aseton, bütün yoğurt örneklerinde var olup kontrol grubunda asetaldehitin düşük olduğu zaman miktarca daha yüksek bulunmuştur.

Süt tozu ve demineralize peynir altı suyu tozunun farklı oranlarda kullanılarak üretilen yoğurt yapımı çalışmasında, yoğurtların aroma profili değerlendirmesi yapılırken bulunan asetaldehit miktarı depolamanın başlangıcına göre azalış göstermiş ve 2.51-4.74 ppm aralığında bulunmuştur (Esen ve Güzeler, 2019).

Yapılan çalışmalara paralel olarak asetaldehit üretimi inkübasyon süresince artmış ve depolamanın sonuna doğru azalış göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen bu yüksek orandaki asetaldehit miktarı literatürlerle kıyaslandığında oldukça dikkate değerdir.

Yoğurt örneklerinin aroma profilinde ortaya çıkan ara ürünlerden (asitler, alkoller) veya salep kaynaklı bileşenlerden dolayı duyu analizi sonuçlarını olumsuz etkileyen bir durum gözlemlenmemiştir.

4.5.2. Üretilen yoğurtların mikrobiyolojik analiz sonuçları

Yoğurt, *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterisinin simbiyotik faaliyetleri sonucunda oluşan besin değeri yüksek fermente bir gıda olarak tanımlanmaktadır (Köse ve Ocak 2014). TS 1330 yoğurt standardına göre ise ön işlemleri uygulanmış süte *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterisinden oluşan kültürün inokülasyonu ve uygun şekilde inkübasyonu sonucunda oluşan ürün olarak tanımlanmaktadır (TSE, 2009). Bu iki bakterinin simbiyotik ilişkisinde; önce *Str. thermophilus*'un süt şekerini kullanarak laktik asit, karbondioksit ve formik asit oluşturarak ortam pH'sını düşürmekte ve *Lb. bulgaricus*'un gelişimini teşvik etmektedir. *Lb. bulgaricus* da süt proteinlerini peptitlere kadar parçalayarak *Str. thermophilus*'un gelişimi için gerekli olan lösin, histidin, valin ve sistein gibi aminoasitlerin üretilmesine yardımcı olmaktadır. Bu faaliyetler sonucunda yoğurdun reolojik ve aromatik özellikleri oluşmaktadır (Tabak, 2018).

Nanoenkapsüle kültürün 3 farklı oranda inokülasyonu ile oluşturulan yoğurt örneklerinde depolama süresince her hafta *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus*, toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya- küf sayımı (kob/ml) gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 4.22 ve Şekil 4.28-30'da verilmiştir. Yoğurt örneklerinde *Str. thermophilus* bakteri sayısı; A yoğurt örneğinde en düşük (8.113 log₁₀ kob/g) iken en

yüksek (11.570 kob/g) C yoğurt örneğinde sayılmıştır. Bütün yoğurt örneklerinde *Str. thermophilus* bakteri sayısı en yüksek seviyesine depolamanın 7. gününde ulaşırken depolamanın sonuna doğru azalış görülmektedir. *Lb. bulgaricus* bakteri sayımında da benzer şekilde bütün yoğurt örneklerinde 7. günde en yüksek bakteri sayısına (11.531 kob/g) ulaşılmıştır. *Lb. bulgaricus* bakteri sayısı; D yoğurt örneğinin 28. gün depolanmasında en düşük (8.164 kob/g) sayılırken en yüksek değer C yoğurt örneğinin 7. gününde sayılmıştır. Toplam aerob mezofilik bakteri sayısı ise en düşük değer (9.215 kob/g) A yoğurt örneğinin 1. gününde sayılmış olup en yüksek değere (11.623 kob/g) C yoğurt örneğinin 14. gününde ulaşılmıştır. Çalışmamızda, depolama boyunca yoğurt örneklerinde herhangi bir maya-küfe rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.22. Yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

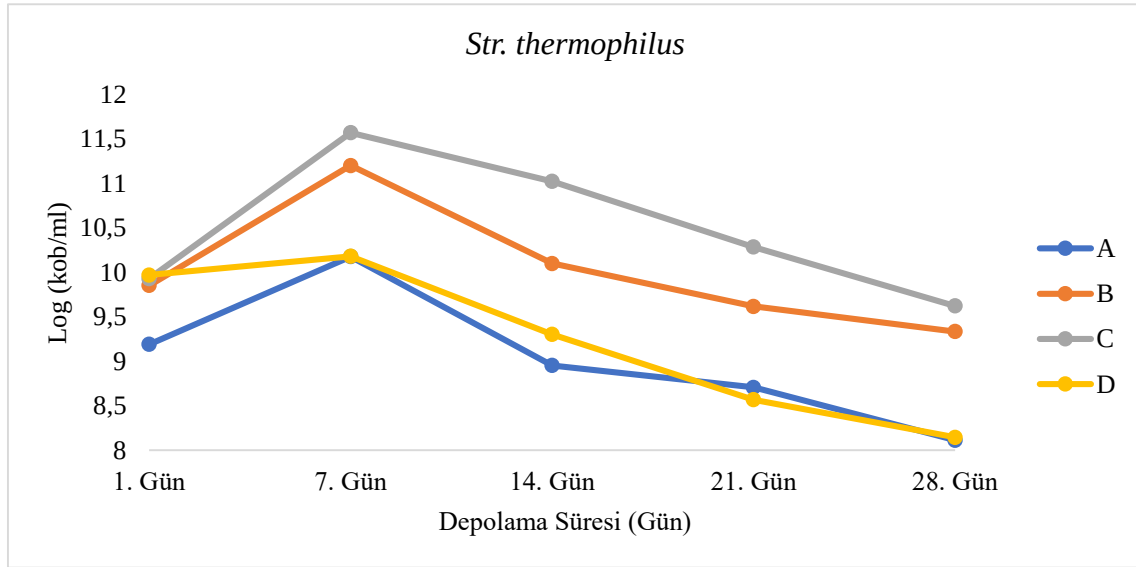
Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)	<i>Str. thermophilus</i>	<i>Lb. bulgaricus</i>	TAMBS
A	1	9.190 ±0.02 ^{Cb}	9.594±0.010 ^{Bc}	9.215±0.026 ^{Ce}
	7	10.176±0.030 ^{Ca}	10.518±0.020 ^{Ca}	10.149±0.010 ^{Dc}
	14	8.954±0.010 ^{Dc}	9.801±0.020 ^{Cb}	10.677±0.030 ^{Ba}
	21	8.707±0.050 ^{Cd}	9.562±0.020 ^{Cc}	10.234±0.043 ^{Cd}
	28	8.173±0.010 ^{Ce}	8.278±0.040 ^{Cd}	9.301±0.010 ^{Cd}
B	1	9.853±0.010 ^{Db}	9.642±0.085 ^{Bc}	9.644±0.020 ^{Be}
	7	11.201±0.020 ^{Ba}	11.164±0.020 ^{Ba}	10.862±0.010 ^{Bb}
	14	10.100±0.010 ^{Ce}	9.934±0.020 ^{Bb}	11.006±0.026 ^{Ca}
	21	9.617±0.030 ^{Bd}	9.648±0.010 ^{Bc}	10.478±0.026 ^{Bc}
	28	9.334±0.020 ^{Bc}	9.390±0.020 ^{Bd}	10.193±0.040 ^{Ad}
C	1	9.930±0.010 ^{Bd}	9.764±0.010 ^{Ad}	9.636±0.010 ^{Be}
	7	11.570±0.032 ^{Aa}	11.531±0.010 ^{Aa}	10.257±0.030 ^{Cc}
	14	11.022±0.036 ^{Ab}	10.752±0.010 ^{Ab}	11.623±0.020 ^{Aa}
	21	10.285±0.026 ^{Ac}	9.906±0.015 ^{Ac}	10.832±0.030 ^{Ab}
	28	9.623±0.020 ^{Ae}	9.556±0.020 ^{Ae}	10.133±0.060 ^{Ad}
D	1	9.970±0.020 ^{Aa}	9.830±0.010 ^{Ab}	10.056±0.010 ^{Ac}
	7	10.181±0.017 ^{Dc}	10.205±0.010 ^{Da}	11.512±0.010 ^{Aa}
	14	9.302±0.052 ^{Bb}	9.779±0.020 ^{Cc}	10.416±0.020 ^{Db}
	21	8.568±0.010 ^{Dd}	9.644±0.032 ^{Bd}	9.954±0.043 ^{Dd}
	28	8.146±0.062 ^{Ce}	8.164±0.010 ^{De}	9.574±0.075 ^{Be}

A-D: Harfleri, aynı depolama süresi içinde farklı konsantrasyonlardaki örnekte mikroorganizma sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

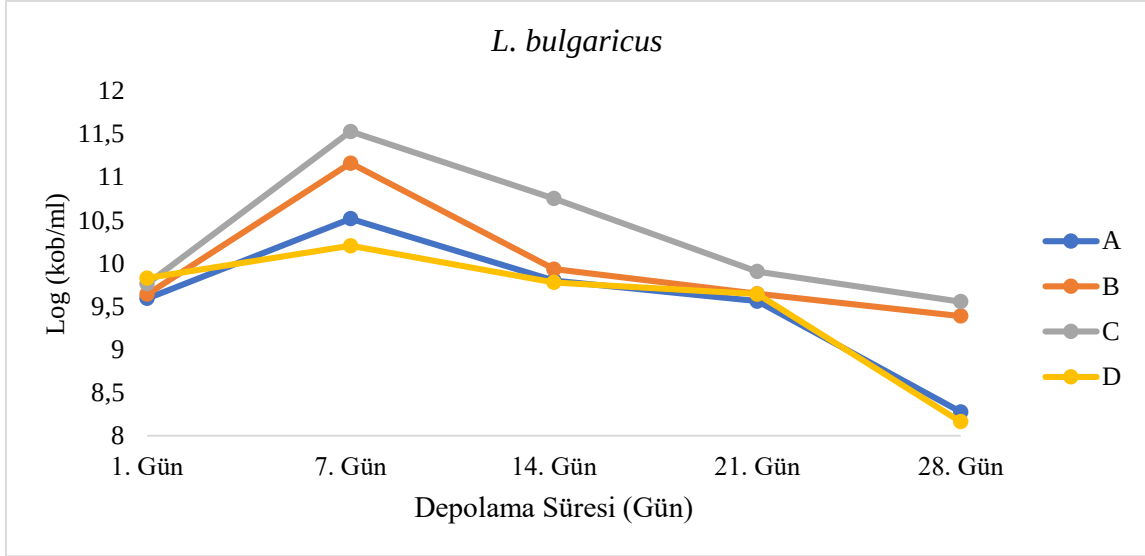
a-e: Harfleri, aynı konsantrasyondaki örneklerde farklı depolama süresince mikroorganizma sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

İstatistiki olarak Çizelge 4.22 incelendiğinde; hem depolama boyunca hem de yoğurt örnekleri arasındaki artış ve azalışın önemli ($P < 0.05$) olduğu görülmektedir.

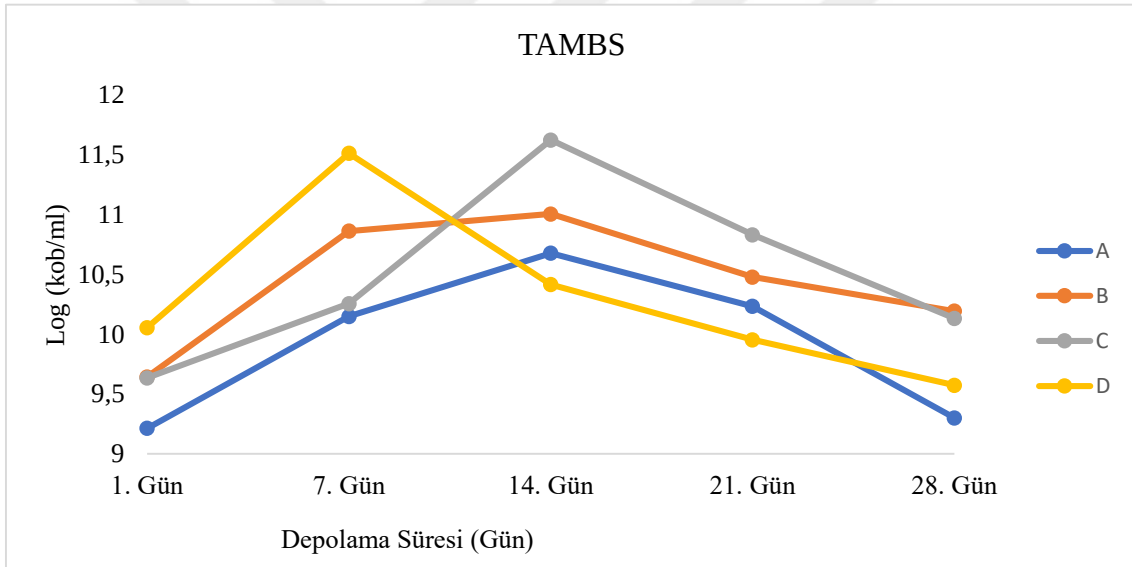
Kaya (2015), inülin ilavesiyle simbiyotik yoğurt çalışmasında kültür olarak sadece *Str. thermophilus* bakterisini kullanmış ve 21 günlük depolama süresince bakteri sayımı gerçekleştirmiştir. Sonuç olarak; *Str. thermophilus* sayısında sürekli azalma ve asit üretiminin de yetersiz olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 28. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca *Str. thermophilus* bakteri sayısının değişimi.



Şekil 4. 29. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca *Lb. bulgaricus* bakteri sayısının değişimi.



Şekil 4. 30. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayısının (TAMBS) değişimi.

Çam balının, probiyotik bakteri canlılığının ve probiyotik yoğurtların bazı özelliklerinin araştırıldığı çalışmada Ayaz (2021), ticari yoğurt kültürüne ek olarak %5-7 oranında bal ilave edimiştir. Çalışmada probiyotik bakteri olarak *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 kullanılmıştır. Bal ilavesinin yoğurt örneklerinde 21 günlük depola süresince *Lactobacillus acidophilus* LA-5 bakteri sayısı üzerinde istatistiki olarak önemli bir artışa sebep olmamıştır. Ancak %7 çam balı ilaveli yoğurtta *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bakteri sayısı 1

log kadar artış göstermiştir. Başka bir çalışmada yoğurtlara bal kabağı lifi eklenmiş ve depolama boyunca mikrobiyolojik sayım yapılmıştır. Depolamanın 1. gününde *Str. thermophilus* bakteri sayı düşük iken 14. günde bakteri sayısının oldukça arttığı görülmüştür (Bakırcı, 2014).

Peyniraltı suyu tozunun yoğurt raf ömrü ve yoğurt bakterileri ile probiyotik bakterilerin canlılığı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; *Lactobacillus acidophilus* peyniraltı suyu tozu ile püskürtmeli yöntem kullanılarak kapsülasyonu yapılmıştır. Kapsüle edilen bakteri ile kapsüle edilmeyen ve sadece peyniraltı suyu kullanılan yoğurtlar üretilmiştir. Yoğurt örneklerinde mikrobiyolojik sayım ve duysal analiz yapılmıştır. Kapsüle edilen probiyotik ilaveli yoğurt örneğindeki bakteri sayısı kapsüle edilmeden katılan örneğe göre 28 günlük depolama sonrasında oldukça yüksek (10^8 kob/g) bulunmuştur. Ayrıca 50 günlük depolama sonrasında bile maya küf gelişimi gözlenmemiştir. Peyniraltı suyu tozunun yoğurtta, duysal olarak olumsuz bir etki göstermediği ifade edilmiştir (Akin, 2006).

Mahmoodi Pour ve ark. (2022), farklı probiyotik bakterileri (*Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus plantarum*) tek ve çok katmanlı emülsiyon yöntemi ile kapsülleyerek yoğurdun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada yoğurt kültürüne ilave olarak probiyotik bakterilerden; serbest, tek katmanlı ve çok katmanlı emülsiyon ile kapsüllenmiş bakteriler eklenerek örnekler oluşturulmuştur. 21 günlük depolama süresince yapılan analiz sonuçları; serbest hücrede canlılık 7.71–7.59 kob/g'dan 6.93–6.82 kob/g'a düşerken çok katmanlı emülsiyon ile kapsüllenen probiyotik bakterilerde canlılık 7.65–7.59 kob/g'dan 7.55–7.45 kob/g'a azalmıştır. Sonuç olarak çok katmanlı emülsiyonun probiyotik mikroorganizmaların canlılığını yoğurt içerisinde korumak için uygun bir yöntem olabileceği vurgulanmıştır.

Afzaal ve ark. (2022) tarafından mikroenkapsüle edilen probiyotik *Bifidobacterium* sp.'lerinin (*B. bifidum* PRL2010, *B. bifidum* NCIMB 41,171, *B. bifidum* CNCM I-4319 ve *B. bifidum* BGN4) yoğurdun fizikokimyasal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Mikroenkapsülasyonda sodyum aljinat ve WPI kullanılmıştır. Yapılan yoğurt örneklerinin 28 günlük depolanması sonucunda, probiyotik bakterilerin canlılığını kontrol örneğine göre önemli derecede koruyabildiği vurgulanmıştır. Ancak WPI'nın (8.54 kob/ml-7.71 kob/ml) probiyotik bakterilerin canlılığını korumada, sodyum aljinattan (8.61 kob/ml-7.36 kob/ml) daha iyi bir kapsülasyon sağladığı bildirilmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza baktığımızda; nanoenkapsüle edilen kültürün en düşük konsantrasyondaki katılımı ile yapılan yoğurt örneklerinde (A) bile kontrol örneğine göre *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakterileri canlılığını daha fazla koruyabilmiştir. Nanoenkapsüle kültürün B ve C yoğurt örnekleri de 28 günlük depolama sonucunda kontrol grubunu (D) ile kıyaslandığında yaklaşık 1.5-2 log kadar daha fazla bakteri canlılığını koruduğu görülmüştür. Bu sonuca göre nanoenkapsülasyon işleminin yoğurt bakteri canlılığını daha uzun süre muhafaza edebildiği söylenebilmektedir. Yapılan çalışmalarda genel olarak yoğurt bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin bulunduğu ortamda daha uzun süre canlı kalarak faydalanılabilirliğin artırılması istenmektedir. Bunun için ya bakteriler değişik materyaller ile kapsüle edilmekte ya da ortama uygun prebiyotik ilavesi ile bakteri canlılığı artırılmaya çalışılmaktadır. Yaptığımız çalışma sonucunda üretilen nanomateryalin bakteri canlılığını önemli ölçüde korumaya uygun olduğu düşünülmektedir.

4.5.3. Üretilen yoğurtların duyuşal değerdendirilmesi

Duyuşal analiz sonuçları, ürünün tüketici tarafından beğenilirliğinin göstergesi olup yoğurt için önemli bir kalite kriteridir. Tüketici ürünü beş duyu organı ile görür, dokunur, koklar ve tadarak ret veya kabul eder. Yeni oluşturulan ürünlerin ticaret piyasasında yerini alması duyuşal özelliklerinin sonucuna bağlıdır. Çalışmamızda nanoenkapsüle edilen yoğurt kültürüyle üretilen hem 3 farklı konsantrasyondaki hem de kontrol grubundaki yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama boyunca belirlenen kişiler aracılığıyla her hafta duyuşal değerdendirmesi puanlama sistemiyle belirlenmiştir.

Çizelge 4.23 incelendiğinde yoğurt örneklerinde; görünüşe verilen en düşük puan (4.63) kontrol grubunun 28. günlük depolanması sonrasında iken, en yüksek puan (4.98) A yoğurt örneğinin 1. ve 2. haftasında, B yoğurt örneğinin 1. haftasında belirlenmiştir. Görünüş genel olarak değerdendirildiğinde nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin puan değerdleri (>4.94) kontrol grubuna (<4.75) göre oldukça yüksek bulunmuştur. Yoğurt örneklerinin kıvam olarak değerdendirmesinde; en düşük puanı (4.58) depolamanın 28. gününde kontrol grubu alırken, en yüksek puanı A yoğurt örneği depolamanın 1. gününde almıştır. Kıvam genel olarak değerdendirildiğinde de

nanoenkapsüle kültür ortalaması (>4.93) kontrol grubundan (<4.68) yüksek bulunmuştur.

Yoğurt starter kültür bakterilerinin (*Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*) %2 sodyum aljinat ile mikroenkapsüle edildiği bir çalışmada yoğurt örnekleri görünüş, kıvam, koku ve tat olarak duyuşal açıdan değerlendirilmiştir. Değerlendirme 1-5 puan üzerinden yapılmıştır. Analiz sonucunda mikroenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinde; görünüş 3.5, kıvam 4.06, koku 4.44 ve tat 3.28 puanla değerlendirirken serbest hücre kültürü ile yapılan yoğurt örneklerinde aynı parametreler sırayla 4.78-4.39-4.89 ve 4.19 puan ile değerlendirilmiştir. Genel olarak bakıldığında ise yoğurt starter kültürünün sodyum aljinat ile enkapsülasyonunun yoğurt duyuşal özellikleri açısından çok beğenilmediği sonucuna varılmıştır (Kılıç ve ark., 2022).

Çalışmamızın duyuşal analiz sonucu genel beğeni olarak değerlendirildiğinde; nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin beğeni ortalaması 4.88 iken, kontrol grubunun beğeni ortalaması (4.39) genel ortalamanın da (4.76) altında kalmıştır. Nanoenkapsüle kültürlü yoğurt örnekleri arasında da en çok beğenileni C örneği olmuştur.

Duyuşal analiz değerlendirmesine katılan panelistler; kontrol grubu yoğurt örneklerinde 3. haftadan itibaren ekşimsi tadın geliştiğini ifade etmişlerdir. Panelistlerin bu ifadelerinin yoğurt örneklerinin pH ve asitlik gelişimi sonuçlarıyla doğru orantılı olduğu sonucuna varılmıştır. Kontrol grubu yoğurt örneklerinin pH'sı diğer yoğurt örneklerinden daha düşük olurken %Laktik asit üretimi de daha fazla gerçekleşmiştir.

Son olarak duyuşal değerlendirme yapan panelistler, nanoenkapsüle kültürle üretilen yoğurtlarda rahatsız edici hiçbir tat ve aromanın bulunmadığını ve tüketici olarak tercih hakkını her zaman kontrol örneği yerine nanoenkapsüle edilen kültürle üretilen yoğurtlardan kullanabileceklerini ifade etmişlerdir.

Çizelge 4.23. Yoğurt örneklerinin duyuşal olarak değerdendirme sonuçları

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi(Gün)	Görünüş	Kıvam	Koku	Tat	Genel Beğeni
A	1	4.98±0.01	4.99±0.01	4.99±0.04	4.97±0.03	4.92±0.14
	7	4.98±0.06	4.96±0.04	4.98±0.05	4.96±0.08	4.90±0.21
	14	4.97±0.04	4.96±0.05	4.98±0.08	4.96±0.12	4.90±0.18
	21	4.95±0.15	4.96±0.02	4.96±0.12	4.95±0.05	4.81±0.30
	28	4.93±0.19	4.95±0.11	4.96±0.14	4.90±0.09	4.65±0.41
	Ortalama	4.962±0.05	4.964±0.08	4.974±0.07	4.948±0.09	4.836±0.11
B	1	4.98±0.02	4.96±0.04	4.96±0.04	4.95±0.05	4.94±0.15
	7	4.96±0.06	4.95±0.05	4.96±0.05	4.94±0.03	4.92±0.26
	14	4.96±0.06	4.94±0.09	4.92±0.02	4.94±0.07	4.90±0.24
	21	4.95±0.15	4.94±0.18	4.91±0.14	4.92±0.18	4.90±0.32
	28	4.93±0.16	4.91±0.20	4.91±0.22	4.90±0.21	4.85±0.45
	Ortalama	4.956±0.02	4.94±0.04	4.932±0.08	4.93±0.05	4.902±0.15
C	1	4.95±0.05	4.94±0.06	4.96±0.12	4.85±0.15	4.98±0.08
	7	4.93±0.04	4.94±0.05	4.91±0.15	4.82±0.25	4.95±0.09
	14	4.93±0.01	4.92±0.14	4.90±0.21	4.80±0.32	4.92±0.15
	21	4.92±0.11	4.89±0.11	4.82±0.23	4.76±0.41	4.92±0.25
	28	4.90±0.23	4.85±0.19	4.82±0.32	4.69±0.45	4.90±0.36
	Ortalama	4.926±0.01	4.908±0.01	4.882±0.08	4.784±0.09	4.934±0.10
D	1	4.85±0.18	4.78±0.32	4.61±0.18	4.20±0.09	4.90±0.19
	7	4.83±0.11	4.70±0.21	4.55±0.52	4.16±0.20	4.75±0.24
	14	4.80±0.15	4.69±0.26	4.53±0.43	4.11±0.26	4.51±0.21
	21	4.72±0.24	4.69±0.32	4.51±0.22	4.06±0.18	4.12±0.30
	28	4.63±0.41	4.58±0.40	4.45±0.36	4.01±0.56	3.68±0.42
	Ortalama	4.766±0.05	4.688±0.04	4.53±0.03	4.108±0.06	4.392±0.13
Genel Ortalama		4.903±0.40	4.875±0.38	4.830±0.35	4.6925±0.42	4.766±0.52
En Düşük		4.63±0.41	4.58±0.40	4.45±0.36	4.01±0.56	4.12±0.30
En Yüksek		4.98±0.01	4.99±0.01	4.99±0.04	4.97±0.03	4.98±0.08

Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.



5. SONUÇ

Farklı yoğurt bakteri kombinasyonlarının belirlenerek WPI ve salep tozu kullanımıyla nanoenkapsüle edilen bakterilerin yoğurt üretiminde kullanılmasını içeren çalışmamızın sonucunda aşağıdaki bulgular belirlenmiştir.

Nanoenkapsülasyon çözeltisinin pH, elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri belirlenmiştir. Çözeltinin pH ve elektriksel iletkenliği oluşturulan nano materyalin çapı, morfoloji ve türü üzerinde etki ettiği ifade edilmektedir. Ancak çalışmamızda elektroegirme çözeltisinin; pH, elektriksel iletkenlik ve viskozite değerleri nanoenkapsülasyonda optimizasyonu sağlanan çözelti için belirlenip kayıt altına alınmış ve sonraki çalışmalarda bu değerlerin aynı olması sağlanmıştır.

Yoğurt starter kültürü için seçilen kombinasyon, hazırlanan çözelti ile elektroegirme cihazında nanoenkapsülenmiştir. Nanoenkapsüle materyalin türünü ve morfolojik yapısını; çözeltinin fizikokimyasal özellikleri, elektroegirme cihazında uygulanan elektriksel güç, çözeltinin akış hızı, iğne ile toplayı plaka arasındaki uzaklık ve kullanılan maddelerin % oranları değiştirebilmektedir. Bir nanomateryalin oluşturulmasında bu parametrelerin birbirleriyle uyumlu olarak optimize edilmesi gerekmektedir. Çalışmada elektroegirme cihazının optimizasyonu; 11 kV yüksek güç uygulanmasıyla, 0.2 ml/h akış hızında ve iğne ile toplayıcı plaka arasındaki 12 cm uzaklık koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Üretilen nanoenkapsülasyon materyalinin morfolojik özellikleri belirlemek için birçok (SEM, TEM, FTIR, TGA) analiz gerçekleştirilmiştir. Nanomateryalin boyut ölçümünün belirlendiği, 100 farklı noktadanın ölçüm sonucunun alındığı SEM analiz cihazıyla yapılan incelemeler (2 μ m ve 400 nm) sonucunda, boyutları 65.23-212.29 nm arasında olduğu görülmektedir. Ortalama çap boyutu 105.50 nm olarak ölçülmüştür. Ayrıca nano yapının taban ağ yapısındaki gözenek çapları ölçülmüştür. Ağ yapısındaki gözenek çapları 32.54-502.81 nm aralığında değişim göstermiş ve ortalama değer 226.23 nm olarak bulunmuştur.

Nanomateryalin karakteristik özelliğinin belirlendiği TEM analiz sonuçları (50 nm ve 200 nm) incelendiğinde, nanomateryalin görüntüsünün düzgün geometrik yapıların tekrarı şeklinde olduğu görülmüştür. 50 nm'deki TEM analiz görüntüsünde 50 farklı noktadan nano yapıların çap ölçümü gerçekleştirilmiştir. Ölçüm değerleri 6.17-11.61 nm

arasında iken ortalama çap değeri 8.53 nm olarak bulunmuştur. TEM analizindeki nano yapıların ölçüm değerleri karbon temelli nanotüp ölçüleriyle uygunluk göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda karbon temelli nanotüp yapıları, karbonun belirli bir uzunluk- çap oranında düzgün geometrik şekillerin tekrar etmesiyle oluştuğu bildirilmiştir. Ürettiğimiz nano materyalde de bağlanma şekillerini tam olarak bilmediğimiz düzgün geometrik yapıların tekrarı görülmüştür. Bu çalışmalara göre SEM ve TEM analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, nanoenkapsüle materyalimizin protein temelli nanotüp olabilme olasılığının güçlendiği görülmektedir.

Nanomateryalin fonksiyonel gruplarını, bunların bağlanma yerlerini ve yapıdaki bağların durumunu belirleyen FTIR cihazı ile yapılan incelemeler sonucunda da salep ve WPI'dan elde edilen sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmuştur. Bu maddelerin karışımıyla oluşturulan elektroegirme nanomateryalinde de ortaya çıkan pikler, uyumludur. Maddelerin kimyasal yapısında, elektroegirme çözeltisinin hazırlanmasında uygulanan teknolojik işlem ve elektroegirme şartlarının bir değişikliğe sebep olmadığı belirlenmiştir

Nanomateryalin sıcaklık ve zamanının bir fonksiyonu olarak kütle kaybının belirlendiği TGA analiz sonucu incelendiğinde de materyalin iki noktada büyük oranda kütle kaybına uğradığı görülmektedir. İlk kütle kaybı sıcaklığın 140-180°C olduğu aralıkta meydana gelirken, ikinci kütle kaybı 180-220°C aralığında gerçekleşmiştir. Grafiğin ilk bölümü incelendiğinde 100°C'ye kadar çok az kütle kaybı olduğu görülmektedir. Bu durum nanoenkapsüle materyalde su kaybı olduğunu ve materyalin nem oranının %5'ten düşük olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızdaki nanoenkapsüle materyal, salep glukomannanı ve WPI'dan oluştuğu için parçalanmış veya kalan kısım ile ilgili net bir bilgiye ulaşamamaktadır. Ancak yapılan önceki çalışmalarla kıyaslandığında ilk kütle kaybının salep glukomannandaki şekerlerden (mannoz, glikoz ve galaktozdan) kaynaklandığı ve ikinci kütle kaybının sebebi WPI'ı dan olduğu düşünülmektedir.

Enkapsüllenen madde veya canlı hücre istenildiği ortamda en kısa sürede kapsülünden kurtulması beklenmektedir. Nanoenkapsüle materyalimizin çözünürlük verimi, 99.82 ± 0.04 oranında bulunmuştur. Çözünürlük oranının yüksek olmasının yanında çözünme hızı da önemlidir. Çalışmamızda kullanılan nanoenkapsülasyon materyali 400 rpm hızında 2 dk kadar kısa bir sürede tamamen çözünmektedir.

Nanoenkapsüllenen bakteri kombinasyonunun yoğurt starter kültürü olarak kullanıma uygunluğunun belirlenmesi için bir dizi analizler yapılmıştır. Bunlar; starterin nanoenkapsüle edildikten sonraki canlılığı, düşük pH, safra tuzu ve simüle mide sıvısı ortamındaki canlılık stabilitesi ve farklı ortamlardaki depolanma (-20°C +4°C ve +25°C) sırasındaki canlılığını koruyabilme analizlerinden oluşmaktadır.

Nanoenkapsülenmiş starterlerin canlılık stabilite sonucuna göre; Ab1 izolatının canlılığı sıvı ortamda 11.63 log iken nanoenkapsüllendikten sonra 10.64 log olarak sayılmıştır. Hesaplanan canlılık oranı ise %91.48 olarak tespit edilmiştir. As2 izolatı için ise sıvı ortamda 12.77 log iken nanoenkapsülenmiş formda 10.74 log'a düşmüştür. Hesaplanan canlılık oranı ise %84.10 olarak bulunmuştur.

Nanoenkapsüllenen starter kültürün düşük pH ortamlarında analiz sonuçları incelendiğinde, Ab1 izolatı 4 h'in sonunda pH 2.0'de canlılığını %86.89 koruyabilirken pH 2.5'da %87.78 oranında canlılığını koruyabilmiştir. As2 izolatı ise aynı şartlarda sırayla canlılığını %86.47 ve %86.56 oranında koruyabilmiştir. İstatistiki olarak her iki izolatın da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ seviyesinde anlamlı bulunmuştur.

Starter kültürün gastrointestinal sistemde en fazla 4 h safra tuzu ile muamele olabileceği düşünülmektedir. Nanoenkapsüllenen starterlerin safra tuzu ortamındaki canlılık stabilitesi analiz sonuçları incelendiğinde, Ab1 izolatı 4 h'in sonunda %0.3 kolik asit ortamında canlılığını %85.65 koruyabilirken %0.5 kolik asit ortamında %85.56 oranında canlılığını koruyabilmiştir. As2 izolatı ise aynı şartlarda sırayla canlılığını %84.70 ve %84.35 oranında koruyabilmiştir. İstatistiki olarak her iki izolatın da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre anlamlı ($P < 0.05$) bulunmuştur.

Nanoenkapsüle starterin simüle mide sıvısı ortamındaki analiz sonuçları incelendiğinde, izolatların 4 h'lik bu ortamdaki inkübasyon sonucunda canlılığı sırayla Ab1 %86.98 ve As2 %86.64 oranında koruyabilmişlerdir. İstatistiki olarak her iki izolatın da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ seviyesinde önemli bulunmuştur.

Nanoenkapsüle starter kültür 3 farklı ortamda (-20°C, +4°C ve +25°C) depolanarak 2'şer aylık sürelerde sayımlar yapılmıştır. Farklı sıcaklık ortamlarındaki (-20°C, +4°C ve +25°C) depolama sonrası 4 ayın sonunda; Ab1 izolatının canlılık değerindeki azalış sırayla %78.57-79.88 ve %80.07 iken As2 izolatının canlılık değerindeki azalış sırayla %77.74- 79.23 ve %79.88 oranında olmuştur. İstatistiki olarak

her iki izolatin da canlılığındaki azalış başlangıç sayımına göre $P < 0.05$ seviyede önemli bulunmuştur. Normalde soğuk ortamda mikroorganizmaların canlılığını daha iyi koruduğu bilinmektedir. Ancak nanoenkapsülasyonda bir kriyoprotektant kullanılmadığı için izolatların canlılık stabilitesinde -20°C 'de daha fazla canlılık kaybı olmuştur. Nanoenkapsülasyonun izolatları en iyi oda sıcaklığında koruyabildiği görülmektedir. Bu sonucun bize, nanoenkapsüllenen yoğurt starter kültürünün soğuk zincir olmadan taşıma ve saklama koşullarında kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.

Son olarak, nanoenkapsüllenen starter kültürün 6 farklı konsantrasyonu ve nanoenkapsüle edilmeyen starterin kontrol grubu olarak kullanıldığı yoğurt üretimleri gerçekleştirilerek kullanılması gereken kültür konsantrasyonu belirlenmiştir.

Yoğurt üretiminde, süte katılan kültür konsantrasyonlarıyla inkübasyon süresi arasında önemli bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Normalde yoğurt inkübasyon süresinin 3-4 saat olduğu ifade edilmesine rağmen yapılan çalışmalarda yoğurt inkübasyon süresi; kültür konsantrasyonu ve kullanılan kültürün türüne göre 4-19 saat arasında değiştiği ifade edilmiştir. Çalışmamızda nanoenkapsülasyonun inkübasyon süresi üzerine etkisini araştırmak için; nanoenkapsüle starter kültür, ön işlemleri uygulanmış süte 6 farklı konsantrasyonda (%0.1-0.5-0.75-1.0-1.5 ve %2.0, v/v) katılarak inkübasyon süreleri takip edilmiştir. Kontrol olarak da nanoenkapsüle edilmeyen yoğurt kültürü (%2.0, v/v) kullanılmıştır. Analiz sonuçları incelendiğinde; katılan kültür konsantrasyonlarıyla inkübasyon süresi arasında önemli bir ilişki olduğu görülmektedir. Ancak aynı orandaki (%2.0) nanoenkapsüle kültür ile kontrol grubu arasında önemli bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Nanoenkapsüle kültürün bir ara kültür oluşturularak kullanılması durumunda, inokülasyon miktarının azalacağı düşünülmektedir. Çünkü çalışmada kontrol grubu yeni aktifleştirilmiş kültür iken aynı oranda kullanılan nanoenkapsüle kültür ile yaklaşık aynı sürede inkübasyonu tamamlamışlardır.

Çalışmamızın devamında, nanoenkapsüle starter kültürün üç farklı konsantrasyonu ve kontrol olarak nanoenkapsüle edilmeyen kültür kullanılarak yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen yoğurtlar; depolamanın 1.-7.-14.-21. ve 28. günlerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri açısından analiz edilmiştir.

Nnanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurtların KM ve Kül değerleri genel olarak kontrolden yüksek bulunmuştur. Bu artışın sebebi nanoenkapsüle materyalden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama sırasındaki pH değişimleri incelendiğinde, nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurt örneklerinin pH değerleri 4.01-4.12 aralığında değişim gösterirken kontrol yoğurt örneklerinin pH değeri 3.76-3.90 aralığında değişim göstermiştir. Kontrol örneğinin en düşük pH değeri (3.76) depolamanın 14. günde ölçülmüştür.

Yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama sırasındaki asitlik değerlerindeki değişim incelendiğinde, nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin asitlik değeri, depolamanın 1. gününde B yoğurt örneğinde (%1.07) görülürken en yüksek değer depolamanın 21. gününde A yoğurt örneğinde (%1.24) ölçülmüştür. Kontrol yoğurt örneğinin ise asitlik değeri (%1.16) en düşük depolamanın 1. gününde iken en yüksek asitlik değeri (%1.31) ile depolamanın 21. günde ölçülmüştür. Nanoenkapsülasyon asitliğin fazla gelişimini engelleyerek pH'nın da çok düşmesini engellemiştir. Bu durum daha uzun süre tüketilebilir yoğurt üretimi için önemli olduğu düşünülmektedir.

Nanomateryal olarak kullanılan salep glukomannanı ve WPI, yapıları gereği kurumadde ve kül oranını artırırken aynı zamanda yoğurdun su tutma kapasitesinin ve viskozitenin artışına ve doğal olarak kontrole göre sinerezisin azalmasına neden olmuştur. Bu durum yoğurt endüstrisi için büyük öneme sahiptir.

Yoğurt örneklerinin 28 günlük depolama sırasında su tutma kapasitesi, en düşük depolamanın 1. gününde A yoğurt örneğinde (%72.39) iken en yüksek değer depolamanın 28. gününde C yoğurt örneğinde (%88.04) görülmüştür. Depolamanın 1. günü hariç diğer günlerde yapılan analiz sonuçlarına göre nanoenkapsüle kültürle üretilen yoğurt örneklerinin su tutma kapasitesi kontrole göre yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerindeki serum ayrılması kontrol grubuna göre başlangıçtan daha düşük ölçülmüştür. Ancak depolanın 28. gününde kontrol grubuna (D) göre A ve B örneklerinde serum ayrılması daha yüksek bulunmuştur.

Yoğurt yapımında kullanılan ilave katkıları, mikroorganizma türü ve oranı yoğurt viskozitesini etkilediği bildirilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda da genel olarak nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinde viskozite son haftaya kadar artmış

ancak son haftada dalgalanmalar görülmüştür. Bu dalgalanmanın sebebinin yoğurt örneklerinde hala mikrobiyal faaliyetin devam ediyor olması şeklinde düşünülmüştür.

Yoğurdun yapısal en önemli kalite parametrelerinden biri olan Tekstür Profil Analizi (TPA) sonuçları incelendiğinde, bütün örneklerde depolamanın başlangıcına göre sertlik değerleri artış göstermiştir. Sertlik değerlerinde kontrolün en yüksek olduğu 2. hafta iken nanoenkapsüle kültür ilaveli örneklerde en yüksek değere 3. hafta da ulaşılmıştır.

Nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin yüzey ve iç yapışkanlığı başlangıç değerlerine göre depolamanın sonunda düşüş göstermiştir. En yüksek değerler 3. haftada görülmüştür. Kontrol örneği değerleri ise depolama boyunca artış sergilemiştir. Yoğurt örneklerinin hepsinde depolama boyunca sakızimsılık değerlerinde başlangıç durumuna göre artış gözlemlenmiştir. Esneklik ise kontrol grubu yoğurt örneklerinde depolama boyunca artarken nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinde depolamanın ilk 3 haftasında artmış, son haftada ise azalış göstermiştir.

Üretilen yoğurt örneklerinin aroma profili analizinde, toplam 46 bileşen tespit edilmiştir. Bunlar; 2 aldehit, 18 asit, 8 alkol, 5 ester, 9 keton ve laktozun parçalanma ara ürünü olan D-galaktoz'dan oluşmaktadır. Ayrıca salep kaynaklı olduğu düşünülen 4 bileşen de bulunmuştur.

Nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurt örneklerinde asetaldehit miktarı 1.680-46.101 mg/kg aralığında iken kontrol grubunda asetaldehit miktarı 1.281-11.575 mg/kg aralığında değişim göstermiştir. En yüksek asetaldehit üretimi (46.101 mg/kg) C örneğinde depolamanın 3. haftasında iken en düşük asetaldehit değeri (1.680 mg/kg) depolamanın 5. haftasında A örneğinde ölçülmüştür. Yapılan çalışmalara paralel olarak asetaldehit üretimi inkübasyon süresince artmış ve depolamanın sonuna doğru azalış göstermiştir.

Yapılan yoğurt örneklerindeki aroma profili genel olarak değerlendirildiğinde, nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurtlarda asetaldehit miktarı kontrol grubunun yaklaşık 4 kat fazlası kadar üretilmiştir. Bunun sebebi olarak, yoğurt örneklerindeki pH seviyesinin 4.01-4.2 aralığında olması olarak düşünülürken son haftalardaki düşüşün ise literatüre paralel olarak depolama süresinin sonu olması olarak yorumlanmaktadır. Kontrol örneğindeki asetaldehit seviyesinin düşük olması ise pH seviyesinin 4'ün altında olması olarak düşünülmektedir. Ayrıca nanoenkapsüle kültür ile üretilen yoğurtlarda

canlı bakteri sayısının kontrol grubuna göre yüksek olması da asetaldehit miktarının kontrol örneğinden fazla olmasına sebep olabileceği düşünülebilmektedir. Ayrıca nanoenkapsülasyondaki bakterinin nanoenkapsülasyon materyalindeki peynir altı suyu protein izolatını kullanmış olması da düşünülmektedir.

Asetaldehitin tek başına veya diğer aroma bileşenlerine oranı yoğurt için bir kalite faktörü olarak kabul edilmesi göz önüne alındığında nanoenkapsüle starterlerle üretilen yoğurtların aroma profili açısından diğer yoğurtlara oranla oldukça üstün olduğu aşıkardır. Zaten elde edilen bu sonuçlar, duyuusal analizi gerçekleştiren panelistlerin değerlendirmelerinde de açık bir şekilde görülmektedir.

Yoğurt örneklerinin aroma profilinde ortaya çıkan ara ürünlerden (asitler, alkoller) veya salep kaynaklı bileşenlerden dolayı duyuusal analiz sonuçlarını olumsuz etkileyen bir durum gözlemlenmemiştir.

Nanoenkapsüle kültürün 3 farklı oranda inokülasyonu ile oluşturulan yoğurt örneklerinin depolama süresince her hafta *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus*, toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya- küf sayımı (kob/ml) gerçekleştirilmiştir. Yoğurt örneklerinde *Str. thermophilus* bakteri sayısı; A yoğurt örneğinde en düşük 8.113 log seviyesinde iken en yüksek 11.570 log seviyesinde C yoğurt örneğinde sayılmıştır. Bütün yoğurt örneklerinde *Str. thermophilus* bakteri sayısı en yüksek seviyesine depolamanın 7. gününde ulaşırken depolamanın sonuna doğru azalış görülmektedir.

Lb. bulgaricus bakteri sayımında da benzer şekilde bütün yoğurt örneklerinde 7. günde en yüksek bakteri sayısına (11.531 log) ulaşılmıştır. *Lb. bulgaricus* bakteri sayısı; D yoğurt örneğinin 28. gün depolanmasında en düşük (8.164 log) sayılırken en yüksek değere C yoğurt örneğinin 7. gününde sayılmıştır.

Toplam aerob mezofilik bakteri sayısı ise en düşük değer (9.215 log) A yoğurt örneğinin 1. gününde sayılmış olup en yüksek değere (11.623 log) C yoğurt örneğinin 14. gününde ulaşılmıştır.

Çalışmamızda, depolama boyunca maya-küf sayımı da metot kısmındaki anlatıldığı gibi rutin olarak yapılmıştır. Ancak mümkün olduğunca steril bir şekilde çalışıldığı için 28 günlük depolama süresince maya-küf gelişimine rastlanılmamıştır.

Çalışma sonuçlarımıza baktığımızda; nanoenkapsüle edilen kültürün en düşük konsantrasyondaki katılımı ile yapılan yoğurt örneklerinde (A) bile nanoenkapsüle edilmeyen kültürle yapılan yoğurt örneklerinde (D) *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus*

bakterileri canlılığını daha fazla koruyabilmiştir. Nanoenkapsüle kültürün %1.0-2.0 (B,C) kullanıldığı yoğurt örnekleri de 28 günlük depolama sonucunda kontrol grubunu (D) ile kıyaslandığında yaklaşık 1.5-2 log kadar daha fazla bakteri canlılığını koruduğu görülmüştür. Bu sonuca göre nanoenkapsülasyon işleminin yoğurt bakteri canlılığını daha uzun süre muhafaza edebildiği söylenebilmektedir. Yapılan çalışmalar da genel olarak yoğurt bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin bulunduğu ortamda daha uzun süre canlı kalarak faydalanılabilirliğin artırılması istenmektedir. Bunun için ya bakteriler değişik materyaller ile kapsüle edilmekte ya da ortama uygun prebiyotik ilavesi ile bakteri canlılığı artırılmaya çalışılmaktadır.

Yoğurt örneklerinin duyu analizi sonuçları incelendiğinde; görünüme verilen en düşük puan (4.63) kontrol grubunun 28. günlük depolanması sonrasında iken en yüksek puan (4.98) değeri A yoğurt örneğinin 1. ve 2. haftasında, B yoğurt örneğinin 1. haftasında değerlendirilmiştir. Görünüş genel olarak değerlendirildiğinde nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin puan değerleri (>4.94) kontrol grubuna (<4.75) göre oldukça yüksek bulunmuştur. Yoğurt örneklerinin kıvam olarak değerlendirmesinde; en düşük puanı depolamanın 28. gününde kontrol grubu (4.58) alırken en yüksek puanı A yoğurt örneği depolamanın 1. gününde almıştır. Kıvam genel olarak değerlendirildiğinde ise nanoenkapsüle kültür ortalaması (>4.93) kontrol grubundan (<4.68) yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızın duyu analizi sonucu genel beğeni olarak değerlendirildiğinde; nanoenkapsüle kültür ile yapılan yoğurt örneklerinin beğeni ortalaması (4.88) iken kontrol grubunun beğeni ortalaması (4.39) bulunmuştur. Nanoenkapsüle kültürlü yoğurt örnekleri arasında da en çok beğenileni C yoğurt örneği olmuştur.

Duyu analizi değerlendirmesine katılan panelistler; kontrol grubu yoğurt örneklerinde 3. haftadan itibaren ekşimsi tadın geliştiğini ifade etmişlerdir. Bu bilginin, yoğurt örneklerinin pH ve asitlik gelişimi sonuçlarına baktığımızda doğru olduğu kanısına varılmıştır.

Son olarak panelistler, nanoenkapsüle kültürle üretilen yoğurtlarda rahatsız edici hiçbir tat ve aromanın bulunmadığını ve tüketici olarak tercih hakkını her zaman kontrol örneği yerine, nanoenkapsüle edilen kültürle üretilen yoğurtlardan yana kullanabileceklerini ifade etmişlerdir.

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen bulgular ışığında böyle bir nanomateryalin yoğurt üretiminde kullanılması ile birçok kazanım gerçekleştirilmiştir. Bunlar;

- ✓ Peyniraltı suyu tozundanki vitamin, minarel ve aminoasitlerden faydalanılmış olması,
- ✓ Salep glukomannanının ilk defa elektroegirme yönteminde kullanılmış olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyon materyali için WPI (%40) ve salep glukomannanının (%2) oranının optimize edilmiş olması,
- ✓ WPI ve salep glukomannanı için elektroegirme koşullarının optimize edilmiş olması,
- ✓ TGA analiz sonucuna göre, nanomateryalin gıda uygulaması olan yoğurt üretim şartlarında (42°C) kütle kaybının %0,51 kadar düşük olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyonun, bakteri canlılığını en iyi oda sıcaklığında koruyabilmiş olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyonun, starter kültürün inkübasyon süresini geciktirmemiş olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyonun, kültürün asitlik gelişimini azaltırken pH düşüşünü kontrole göre engellemiş olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyonlu starter kültür, yoğurt örneklerinde asetaldehit üretimini 4 kat artırmış olması,
- ✓ Nanoenkapsülasyon materyalinin, yoğurt örneklerinde aroma profili ve duyuusal değerlendirmesinde herhangi bir olumsuzluğa sebep olmaması,
- ✓ Nanoenkapsüle kültürün 28 günlük depolama sonucunda kontrol grubuna göre yaklaşık 1.5-2 log daha fazla bakteri canlılığını korumuş olması,
- ✓ Duyusal değerlendirme yapan kişilerin nanoenkapsüle kültürle üretilen yoğurtları tercih etmiş olması,
- ✓ Yerel yoğurt bakterilerinin starter kültür olarak ilk defa nano boyutta enkapsüle edilmiş olması,
- ✓ Nanoenkapsüllenen starter kültürün, yerel ticari kültür olabilme potansiyeli taşıması şeklinde sıralanabilmektedir.

Belirlenen bu kazanımlar dikkate alındığında WPI ve salep glukomannanı ile yapılan nanomateryalin çalışılan starter kültür bakterileri ve ürün için oldukça uygun

olduğu, yoğurt üretiminde kullanılan iki starter bakterinin bu nanomateryal ile kaplanması yoğurt üretim kalitesini artıracakđı söylenebilir. Bundan sonraki çalışmalarda farklı bakterilerle ve farklı konsantrasyon ve ürünlerle böyle bir nanomateryalin çalışılması bilim dünyasına yeni ışıklar sunacaktır.



KAYNAKLAR

- Abedfar, A., Hosseini-zhad, M., Sadeghi, A., Raeisi, M., 2021. Comparative survival of exopolysaccharide encapsulated *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* in simulated gastrointestinal conditions and storage time. ***Journal of Food Measurement and Characterization***, 15(1): 594-603.
- Afzaal, M., Saeed, F., Hussain, M., Ismail, Z., Siddeeg, A., Ammar, A. F., Aljobair, M. O., 2022. Influence of encapsulation on the survival of probiotics in food matrix under simulated stress conditions. ***Saudi Journal of Biological Sciences***, 29(9), 103394.
- Ajallouean, F., Guerra, P. R., Bahl, M. I., Torp, A. M., Te Hwu, E., Licht, T. R., Boisen, A., 2022. Multi-layer PLGA-pullulan-PLGA electrospun nanofibers for probiotic delivery. ***Food Hydrocolloids***, 123: 107112.
- Akalan, F. E., 2011. ***Kaymak Altı Sütünün Değişik Oranlarda İnek Sütü ile Karışımından Üretilen Yoğurtların Bazı Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi*** (Yüksek lisans tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Akbar, Z., Zahoor, T., Huma, N., Jamil, A., Ayesha, H., Kumar, I. J., 2018. Electrospun probiotics: an alternative for encapsulation. ***Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents***, 32(6): 1551.
- Akin, N., 2006. Yoğurdun tarihçesi, bileşimi ve bazı özellikleri. ***Modern Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi***. Pg, 6-12.
- Albano, C., Morandi, S., Silveti, T., Casiraghi, M. C., Manini, F., Brasca, M., 2018. Lactic acid bacteria with cholesterol-lowering properties for dairy applications: In vitro and in situ activity. ***Journal of Dairy Science***, 101(12): 10807-10818.
- Albay, Z., 2012. ***Tuzlu Yoğurtların Üretimi ve Depolanması Sırasında Aflatoksin M1 Konsantrasyonundaki Değişiklikler*** (Doktora tezi), SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., Shah, N. P., 2006. Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. ***International Dairy Journal***, 16(1), 40-51.
- Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/02/20090216-8.htm>, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Ankara. Erişim tarihi: 03.08.2022
- Anonim, 2018. Orman genel müdürlüğü. <https://www.oqm.gov.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022.
- Atraki, R., Azizkhani, M., 2021. Survival of probiotic bacteria nanoencapsulated within biopolymers in a simulated gastrointestinal model. ***Innovative Food Science and Emerging Technologies***, 72: 102750.
- Ayar, A., Gurlin, E., 2014. Production and sensory, textural, physicochemical properties of flavored spreadable yogurt. ***Life Science Journal***, 11(4): 58-65.
- Ayaz, M.R., 2021. ***Çam Balının Probiyotik Bakteri Canlılığı ve Probiyotik Yoğurtların Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi***. (Doktora tezi), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Aytar, E. C., Kömpe, Y. Ö., 2021. Orkidelerin Geleneksel Kullanımları, Fitokimyasal İçerikleri ve Biyolojik Aktiviteleri. ***Black Sea Journal of Engineering and Science***, 9-10.

- Bakırcı, D. İ., 2016. *Yoğurt Üretiminde Yayıtkaltı Tozu ve Peyniraltı Suyu Tozunun Farklı Kombinasyonlarda Yağsız Süt Tozu Yerine Kullanılma Olanakları* (Doktora tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Bakırcı, S., 2014. *Balkabağı Lifi Kullanımının Yarım Yağlı Yoğurdun Kalitesi ve Depolama Stabilitesi Üzerine Etkisi* (Doktora tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Balcao, V. M., Costa, C. I., Matos, C. M., Moutinho, C. G., Amorim, M., Pintado, M. E., Teixeira, J. A., 2013. Nanoencapsulation of bovine lactoferrin for food and biopharmaceutical applications. *Food Hydrocolloids*, **32**(2): 425-431.
- Barakat, H., Mohamed, A., Gemiel, D. G., Atallah, A. A., 2021. Microstructural, volatile compounds, microbiological and organoleptical characteristics of low-fat buffalo milk yogurt enriched with whey protein concentrate and ca-caseinate during cold storage. *Fermentation*, **7**(4), 250.
- Bardajee, G. R., Sharifi, M., Karimi, M. A., Rezanejad, H., 2022. Application of a nanocomposite based on modified salep glucomannan for monitoring controlled release of tetracycline as a model drug. *Journal of Polymer Research*, **29**(5), 1-10.
- Britannica., 2022 The Editors of Encyclopaedia. "fire". Encyclopedia Britannica, <https://www.britannica.com/science/fire-combustion>. Erişim tarihi: 03.08. 2022.
- Bulut, M., 2020. *Bazı Bitki (Yeşil Çay, Nane, Kekik, Uçkun) ve Üzüm Çekirdeği Ekstraktlarının Eklenmesinin Yoğurdun Çeşitli Özellikleri ve Oksidoredüksiyonu Üzerine Etkisi*. (Doktora tezi), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Bulut-Solak, B., Alonso-Miravalles, L., O'Mahony, J. A., 2017. Composition, morphology and pasting properties of Orchis anatolica tuber gum. *Food Hydrocolloids*, **69**: 483-490.
- Ceylan, Z., Meral, R., Karakaş, CY, Dertli, E., Yılmaz, MT., 2018. Probiyotik bakteriler için yeni bir strateji: Karakterize edilmiş probiyotik bakteri yüklü nanolifler kullanarak balık filetolarının mikrobiyal stabilitesini sağlamak. *Yenilikçi Gıda Bilimi ve Gelişen Teknolojiler*, **48**: 212-218.
- Ceylan, Z., Sengor, G. F. U., Sağdıç, O., Yılmaz, M. T. 2017. A novel approach to extend microbiological stability of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets coated with electrospun chitosan nanofibers. *LWT-Food Science and Technology*, **79**: 367-375.
- Ceylan, Z., Uslu, E., İspirli, H., Meral, R., Gavgalı, M., Tahsin'Yılmaz, M., Dertli, E., 2019. A novel perspective for Lactobacillus reuteri: Nanoencapsulation to obtain functional fish fillets. *LWT-Food Science and Technology*, **115**: 108427.
- Chen, H. Y., Li, X. Y., Liu, B. J., Meng, X. H., 2017. Microencapsulation of Lactobacillus bulgaricus and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, **29**: 248-255.
- Chen, M. Y., Zheng, W., Dong, Q. Y., Li, Z. H., Shi, L. E., Tang, Z. X., 2014. Activity of encapsulated Lactobacillus bulgaricus in alginate-whey protein microspheres. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **57**(5): 736-741.
- Coelho, S. C., Estevinho, B. N., Rocha, F., 2021. Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying—A review. *Food Chemistry*, **339**: 127850.
- Coghetto, C. C., Brinques, G. B., Siqueira, N. M., Pletsch, J., Soares, R. M. D., Ayub, M. A. Z., 2016. Electrospraying microencapsulation of Lactobacillus plantarum

- enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. *Journal of Functional Foods*, **24**: 316-326.
- Coskun, F., Karabulut Dirican, L., 2019. Effects of pine honey on the physicochemical, microbiological and sensory properties of probiotic yoghurt. *Food Science and Technology*, **3**: 616-625.
- Çabuk, B., 2014. *Development of Whey Protein-Pullulan Microcapsules For The Encapsulation of Lactobacillus Acidophilus NRRL-B 4495 As a Functional Food Ingredient*, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Çakmak, E., 2019. *İnek ve Soya Sütü Karışımından Yapılan Probiyotik Yoğurtların Bazı Özellikleri Üzerine Transglutaminaz Enziminin Etkisi*. (Doktora tezi), Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Çakmakçı, D. S., 2016. *Probiyotik Kültür ve Gobdin İlavesiyle Üretilen Yoğurtların Probiyotik Raf Ömrü ve Bazı Kalite Özelliklerinin Tespiti* (Doktora tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Çanga, E.M., 2020. *Elektroeğrilmış Polivinil Alkol/Selüloz Asetat Hibrit Fiberlere Probiyotik Enkapsülasyonu*, (Yüksek Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çayır, M. S., 2007. *Probiyotik Kültür Kullanılarak Üretilen Kayısı Katkılı Yoğurtların Bazı Özellikleri* (Doktora tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Çelik, H., Durak, Y., Uysal, A. 2016. Bazı ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, **42**(2): 149-160.
- Çelik, Ö.F., 2020. *Geleneksel Yoğurtlardan Antimikrobiyal Aktiviteli Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Yoğurt Kalitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi*. (Doktora tezi), Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Çığ, A., 2012. *Van'da Doğal Olarak Yetişen Salep Orkidelerinin Simbiyotik ve Asimbiyotik Olarak in Vitro ve in Vivo Ortamlarda Çoğaltılması*. (Doktora Tezi), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı
- Delikanlı, B., 2012. *Süt Proteini Katkıları ile Zenginleştirilen Yağsız Yoğurtların Tekstürel Özelliklerinin Belirlenmesi* (Doktora tezi), Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Demirci, A., Elvan, Ocak., 2020. Sağlıklı ve Kaliteli Yoğurt Nasıl Mayalanır?, *Academic Platform Journal of Halal Life Style*, **2**(1): 14-22.
- Demirci, A., 2017. *Ağrı Yöresindeki Bazı Yoğurt Örneklerinde Çeşitli Bakterilerinin İzolasyon ve Karakterizasyonu* (Yüksek lisans tezi), Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı.
- Drosou, C., Krokida, M., Biliaderis, C. G., 2018. Composite pullulan-whey protein nanofibers made by electrospinning: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties. *Food Hydrocolloids*, **77**: 726-735.
- Duru Kamacı, Ü., Peksel, A., 2022. Poly (vinyl alcohol)-based Electrospun Nanofibers: Characterization and Phytase Immobilization. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, **12**(6).
- Dwivedy, A. K., Singh, V. K., Prakash, B., Dubey, N. K., 2018. Nanoencapsulated Illicium verum Hook. f. essential oil as an effective novel plant-based preservative

- against aflatoxin B1 production and free radical generation. *Food and Chemical Toxicology*, **111**: 102-113.
- Ecem, Akan., Yerlikaya, O., SAygılı, D., Kınık, Ö. Farklı starter kültür kullanımının yoğurtların tekstürel ve viskozite özelliklerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **58**(3):377-383.
- Ender, G., Karagözlü, C., Yerlikaya, O., Akbulut, N., 2006. Dünyada ve Türkiye’de tüketimi artan fermente süt içecekleri. *Türkiye*, **9**:24-26.
- Erbay, E. A., Dağtekin, B. B. G., Türe, M., Yeşilsu, A. F., Torres-Giner, S., 2017. Quality improvement of rainbow trout fillets by whey protein isolate coatings containing electrospun poly (ϵ -caprolactone) nanofibers with *Urtica dioica* L. extract during storage. *LWT-Food Science and Technology*, **78**: 340-351.
- Ergin, F., 2022. Süt Tozu, Peyniraltı Suyu İzolatı veya İnülin ile Kurumaddesi Arttırılan ve Kalsiyum Klorür Eklenen Sütlerden Üretilen Probiyotik Yoğurtların Bazı Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri. *Akademik Gıda*, **20**(2), 145-160.
- Erkuş, O., 2007. Isolation, phenotypic and genotypic charecterization of yoghurt starter bacteris. *Izmir Institute of Technology* (Turkey).
- Erman, M.N., 2019. *Yoğurtta Maltodekstrin ve Transglutaminaz Enzimi Kullanımının Yapısal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi*. (Doktora tezi), Van yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Esen, M. K., Güzeler, N., 2019. Peyniraltı Suyu Tozu Kullanılarak Üretilen Kefir Yoğurdunun Depolama Süresince Bazı Özellikleri. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **34**(1):17-26.
- Fahami, A., Fathi, M., 2018. Development of cress seed mucilage/PVA nanofibers as a novel carrier for vitamin A delivery. *Food Hydrocolloids*, **81**:31-38.
- Feng, K., Huang, R. M., Wu, R. Q., Wei, Y. S., Zong, M. H., Linhardt, R. J., Wu, H., 2020. A novel route for double-layered encapsulation of probiotics with improved viability under adverse conditions. *Food chemistry*, **310**: 125977.
- Ghorbani, S., Maryam, A., 2021. Encapsulation of lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* using starch-sodium alginate nanofibers to enhance viability in food model. *Journal of Food Processing and Preservation*, **45**(12): e16048.
- Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., Morelli, L., 2005. Should yoghurt cultures be considered probiotic?. *British Journal of Nutrition*, **93**(6): 783-786.
- Guzel-Seydim, Z., Korkusuz, N., Sezgin, E., 2005. Effects of using glucono delta-lactone (GdL) on set type plain yogurt quality. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, **60**(2).
- Güngör, A. Ç., Gürbüz, S., Mutlu, A., Musa, A., Palabıçak, B., 2020. Mardin İlinde Satışa Sunulan Endüstriyel ve Geleneksel Yöntemle Üretilen Yoğurtların Kalite Kriterlerinin Araştırılması. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **17**(2): 221-226.
- Haider, A., Haider, S., Kang, I. K., 2018. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, **11**(8): 1165-1188.
- Halkman, A. T. D., Korkmaz, A. G. Y., 2011. *Yoğurt ve Peynir için Starter Kültür Üretimi* (Doktora tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Hammes, W. P., Vogel, R. F., 1995. The genus lactobacillus. In The genera of lactic acid bacteria (pp. 19-54). **Springer, Boston**, MA.
- Han, C., Xiao, Y., Liu, E., Su, Z., Meng, X., Liu, B., 2020. Preparation of Ca-alginate-whey protein isolate microcapsules for protection and delivery of *L. bulgaricus* and *L. paracasei*. **International Journal of Biological Macromolecules**, **163**:1361-1368.
- Hökelekli, Ç., 2021. **Yoğurt Bakterilerinin Elektropüskürtme Yöntemi ile Kapsülasyonunun Optimizasyonu ve Kapsüle Yoğurt Bakterilerinin Yoğurt Üretiminde Kullanım Olanaklarının Araştırılması**. (Doktora tezi), Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- 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.
- Ipsen, R., Otte, J., 2007. Self-assembly of partially hydrolysed α -lactalbumin. **Biotechnology Advances**, **25**(6), 602-605.
- İmamli, H., Fırat, A., 2018. Probiyotik kullanımının sağlığa ve sportif performansa etkileri. **Sporometre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi**, **16**(2): 196-208.
- Jayani, T., Sanjeev, B., Marimuthu, S., Uthandi, S., 2020. Bacterial Cellulose Nano Fiber (BCNF) as carrier support for the immobilization of probiotic, *Lactobacillus acidophilus* 016. **Carbohydrate Polymers**, **250**: 116965.
- Karakayacı, Z., Öz, Z. N., Baz, S., Koçyiğit, S., 2018. Selçuk Üniversitesi lisans öğrencilerinin süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. **Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences**, **32**(3): 289-296.
- Kaya, M., 2015. **Sinbiyotik Yoğurt Üretimi ve Reolojik, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi**, (Yüksek Lisans Tezi), Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Kayacan Çakmakoglu, S., Vurmaz, M., Bezirci, E., Kaya, Y., Dikmen, H., Göktaş, H., Dertli, E., 2022. Isolation and characterization of yogurt starter cultures from traditional yogurts and growth kinetics of selected cultures under lab-scale fermentation. **Preparative Biochemistry Biotechnology**, 1-10.
- Kılıç, E. E., Halil Kılıç, İ., Koç, B., 2022. Yoghurt Production Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Leguminous Seeds and Effects of Encapsulated Lactic Acid Bacteria on Bacterial Viability and Physicochemical and Sensory Properties of Yoghurt. **Journal of Chemistry**
- Kılıç, S., 2010. **Süt Mikrobiyolojisi**. Sidas Medya Ltd. Şti., 680 s, İzmir.
- Koçak, K., 2013. **Tüketime Sunulan Yoğurtlarda Bazı Katkı Maddelerinin (Nişasta, Jelatin, Natamisin) Kullanımı ve Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesine Yönelik Piyasa Araştırması**, (Yüksek Lisans Tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Koçak, Y., Fındık, A., Çiftçi, A., 2016. Probiyotikler: Genel Özellikleri ve Güvenilirlikleri. **Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi**, **27**(2): 118-122.
- Korkmaz, A. G., 2011. **Yoğurt ve Peynir için Starter Kültür Üretimi** (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H., 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. **International Dairy Journal**, **13**(1): 3-13.
- Kurt, A., 2018. Modulating hydrogel characteristics of deacetylated saiep glucomannan by blending xanthan gum. **Airline Sponsor Sponsor**, **19**: 15.

- Kurt, A., 2019. Development of a water-resistant salep glucomannan film via chemical modification. *Carbohydrate Polymers*, **213**: 286-295.
- Kurt, A., Kahyaoglu, T., 2017. Purification of glucomannan from salep: Part 2. Structural characterization. *Carbohydrate Polymers*, **169**: 406-416.
- Kutlu, N., Meral, R., Ekin, M. M., Erim Kose, Y., Ceylan, Z., 2022. A new application for the valorisation of pomegranate seed oil: nanoencapsulation of pomegranate seed oil into electrospun nanomats for food preservation. *International Journal of Food Science and Technology*, **57**(2): 1074-1082.
- Kutzli, I., Gibis, M., Baier, S. K., Weiss, J., 2018. Fabrication and characterization of food-grade fibers from mixtures of maltodextrin and whey protein isolate using needleless electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science*, **135**(22), 46328.
- Lees, G. J., Jago, G. R., 1969. Methods for the estimation of acetaldehyde in cultured dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*.
- Li, Z., Barnes, J. C., Bosoy, A., Stoddart, J. F., Zink, J. I., 2012. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, **41**(7): 2590-2605.
- Liu, J., Zhu, K., Ye, T., Wan, S., Wang, Y., Wang, D., Wang, C., 2013. Influence of konjac glucomannan on gelling properties and water state in egg white protein gel. *Food Research International*, **51**(2), 437-443.
- Lopez-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y., Lagaron, J. M., 2012. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, **28**(1): 159-167.
- Ma, J., Xu, C., Yu, H., Feng, Z., Yu, W., Gu, L., Hou, J., 2021. Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology. *Food Hydrocolloids*, **111**:106381.
- Mahmoodi Pour, H., Marhamatizadeh, M. H., Fattahi, H., 2022. Encapsulation of Different Types of Probiotic Bacteria within Conventional/Multilayer Emulsion and Its Effect on the Properties of Probiotic Yogurt. *Journal of Food Quality*.
- MBS., 2022. Türkiye Cumhurbaşkanlığı mevzuat bilgi sistemi. <https://www.mevzuat.gov.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- Metin, M., 2001. Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fak. Yay*, 3. baskı (33).
- Metin, M., 2001. Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fak*, 4. baskı (33), 801-806.
- Metin, M., 2005. Süt teknolojisi sütün bileşimi ve işlenmesi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları*, **33**: 1-2.
- Metin. M., Öztürk. G. F., 2010. Süt ve mamülleri analiz yöntemleri:(duyusal. fiziksel ve kimyasal analizler). *Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri*, 5. Basım, Ege Üniversitesi.
- Mitchell, G. R. (Ed.), 2015. Electrospinning: principles, practice and possibilities. *Royal Society of Chemistry*.
- Moghadam, R. M., Ariaii, P., Ahmady, M., 2021. The effect of microencapsulated extract of pennyroyal (*Mentha pulegium*. L) on the physicochemical, sensory, and viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **15**(3):2625-2636.
- Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mohammad Mortazavian, A., 2012. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences*, **12**(4): 399-409.

- Mojaveri, S. J., Hosseini, S. F., Gharsallaoui, A., 2020. Viability improvement of *Bifidobacterium animalis* Bb12 by encapsulation in chitosan/poly (vinyl alcohol) hybrid electrospun fiber mats. ***Carbohydrate Polymers*, 241:** 116278.
- Moreno, J. S., Dima, P., Chronakis, I. S., Mendes, A. C., 2021. Electrospayed ethyl cellulose core-shell microcapsules for the encapsulation of probiotics. ***Pharmaceutics*, 14(1):** 7.
- Mudgil, D., Barak, S., Khatkar, B. S., 2017. Texture profile analysis of yogurt as influenced by partially hydrolyzed guar gum and process variables. ***Journal of Food Science and Technology*, 54(12):** 3810-3817.
- Nayak, R., Padhye, R., Kyratzis, I. L., Truong, Y. B., & Arnold, L., 2013. Effect of viscosity and electrical conductivity on the morphology and fiber diameter in melt electrospinning of polypropylene. ***Textile Research Journal*, 83(6),** 606-617.
- Okuklu, B., 2014. ***Isolation, Characterization, and Screening Probiotic Properties of Artisanal Yoghurt Starter Strains From Urla Region***. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Özer, H., 2006. ***Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi***. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü
- Peredo, A. G., Beristain, C. I., Pascual, L. A., Azuara, E., Jimenez, M., 2016. The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. ***LWT-Food Science and Technology*, 73:** 191-196.
- Ragavan, M. L., Das, N., 2020: Nanoencapsulation of *Saccharomycopsis fibuligera* VIT-MN04 using electrospinning technique for easy gastrointestinal transit. ***IET-The Institution of Engineering and Technology* 14(9):** 766-773.
- Rajagopal, S. N., Sandine, W. E., 1990. Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. ***Journal of dairy science*, 73(4),** 894-899.
- Ramazani. S.. Rostami. M.. Raeisi. M.. Tabibiazar. M.. Ghorbani. M., 2019. Fabrication of food-grade nanofibers of whey protein Isolate–Guar gum using the electrospinning method. ***Food Hydrocolloids*. 90:** 99-104.
- Ramirez-Sucre, M. O., Velez-Ruiz, J. F., 2013. Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. ***LWT-Food Science and Technology*, 51(1):** 233-241.
- Ramos, O. L., Pereira, R. N., Martins, A., Rodrigues, R., Fucinos, C., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., 2017. Design of whey protein nanostructures for incorporation and release of nutraceutical compounds in food. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(7),** 1377-1393.
- Ray, B., Sandine, W. E., 2019. Acetic, propionic, and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives. ***In Food Biopreservatives of Microbial Origin (pp. 103-136)***. CRC press.
- Robinson, R. K., Tamime, A. Y., Wszolek, M., 2002. Microbiology of fermented milks. ***Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products*, 468.**
- Romero-Chapol, O. O., Varela-Perez, A., Castillo-Olmos, A. G., Garcia, H. S., Singh, J., García-Ramírez, P. J., Cano-Sarmiento, C., 2022. Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG: Probiotic Survival, In Vitro Digestion and Viability in Apple Juice and Yogurt. ***Applied Sciences*, 12(4):** 2141.
- Salep., 2022. Türkiye salep borsası. <https://salepborsasi.com>. Erişim Tarihi: 03.08.2022

- Savran, D., Halkman, A. K., 2017. Yoğurt Fermantasyonu Sırasında Salmonella Enteritidis'in Farklı İnokülasyon Koşullarında Canlı Kalma Durumunun Araştırılması. **Gıda**, **42**(1): 1-7.
- Seyrekoğlu, F., 2020. **Bazı Kantaron Ekstraktlarının Enkapsülasyon Tekniği ile Ayran Üretiminde Kullanılması**. (Doktora tezi), Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Shruthi, P. A., Pushpadass, H. A., Magdaline Eljeeva Emerald, F., Surendra Nath, B., Laxmana Naik, N., 2021. Formulation and characterization of catechin-loaded proniosomes for food fortification. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **101**(6): 2439-2448.
- Skrlec, K., Zupancic, S., Mihevc, S. P., Kocbek, P., Kristl, J., Berlec, A., 2019. Development of electrospun nanofibers that enable high loading and long-term viability of probiotics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, **136**: 108-119.
- Sodini, I., Mattas, J., & Tong, P. S., 2006. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. **International Dairy Journal**, **16**(12), 1464-1469.
- Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., Upadhyay, A., 2020. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. **Food Research International**, **136**: 109582.
- Sukumar, A. P., Devikrishna, P., Emerald, F. M. E., Pushpadass, H. A., Nath, B. S., 2021. Encapsulation of Probiotics by Electrospinning. Handbook of Research on Food Processing and Preservation Technologies: **Volume 2: Nonthermal Food Preservation and Novel Processing Strategies**, 237.
- Süslü, A., 2009. **Elektro-Eğirme Yöntemi ile Nanofiber ve Nanotüp Üretimi** (Doktora tezi), Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şengül, M., Başlar, M., Erkaya, T., Ertugay, M. F., 2009. Ultrasonik homojenizasyon işleminin yoğurdun su tutma kapasitesi üzerine etkisi. **Gıda**, **34**(4): 219-222.
- Şenol, K., Elvan, O., 2014. Yoğurтта lezzet bileşenlerinin oluşumu ve bu oluşum üzerine etki eden faktörler. **Akademik Gıda**, **12**(2): 101-107.
- Tabak, R., 2018. **Geleneksel Yoğurtlardan Starter Bakterilerin İzolasyonu, Moleküler Tanımlaması ve Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi**. (Doktora tezi), Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Tahir, A., Shabir Ahmad, R., Imran, M., Ahmad, M. H., Kamran Khan, M., Muhammad, N., Javed, M., 2021. Recent approaches for utilization of food components as nano-encapsulation: a review. **International Journal of Food Properties**, **24**(1), 1074-1096.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K., 2007. **Tamime and Robinson's yoghurt: Science and Technology**. Elsevier.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 2001. Yoghurt Science and Technology. **New York, USA**: CRC Press.
- Tang, B. Z., 2015. Electrospinning: principles, practice and possibilities. **Royal Society of Chemistry**.
- Taşdemir, A., 2017. Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler. **Sağlık Akademisi Kastamonu**, **2**(1): 71-88.
- Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., Mathewos, M., 2021. Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. **The Scientific World Journal**, 2021.

- Temiz, A., Yılmaz, R., 2003. *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 'un klasik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması ve karakterizasyonu. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi** 1 (3): 19-42.
- Tepe, M., 2021. **Starter Kültür ve Geleneksel Ev Yapımı Yoğurt Mayası Kullanılarak İnek Sütünden Yapılan Yoğurtların Çeşitli Özelliklerinin Belirlenmesi** (Yüksek lisans tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- TGK., 2009. Türk gıda kodeksi. <https://www.tse.org.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- Tian, H., Yu, B., Yu, H., Chen, C., 2020. Evaluation of the synergistic olfactory effects of diacetyl, acetaldehyde, and acetoin in a yogurt matrix using odor threshold, aroma intensity, and electronic nose analyses. **Journal of Dairy Science**, 103(9), 7957-7967.
- Toe, C. J., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., Abdul Rahim, R., Idrus, Z., 2019. Extracellular proteolytic activity and amino acid production by lactic acid bacteria isolated from Malaysian foods. **International Journal of Molecular Sciences**, 20(7): 1777.
- Toksöz, D., 2010. **Keten Tohumu Protein Konsantresinin Yoğurdun Bazı Nitelikleri Üzerine Etkisi** (Yüksek lisans tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Torku., 2018. Torku A.Ş. <https://torku.com.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- TSE., 2022. Türk standartları enstitüsü. <https://intweb.tse.org.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- Tulini, F. L., Hymery, N., Haertlé, T., Le Blay, G., De Martinis, E. C., 2016. Screening for antimicrobial and proteolytic activities of lactic acid bacteria isolated from cow, buffalo and goat milk and cheeses marketed in the southeast region of Brazil. **Journal of Dairy Research**, 83(1): 115-124.
- Tunçtürk, Y., Zorba, Ö., Özrenk, E., 2000. Farklı homojenizasyon basıncı derecelerinin set yoğurtların bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisi. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, 10(1): 45-52.
- Turkmen, N., 2021. Turkey's Wild Orchids. In **Biodiversity, Conservation and Sustainability in Asia** (pp. 101-109). Springer, Cham.
- TÜİK., 2021. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- Türkmen, N. (2019). **Bazı Yabani Orkide Türlerinden Elde Edilen Saleplerin Maraş Usulü Dondurma Üretiminde Kullanım Olanaklarının Araştırılması**. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 186s.
- USK., 2021. Ulusal süt konseyi. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr>. Erişim Tarihi: 03.08.2022
- Usta, B., 2015. **Bazı Bifidobacterium Türlerinin Gelişmesi Üzerine Salep Tozunun Etkisinin İncelenmesi** (Yüksek lisans tezi), Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Uzunsoy, İ., 2018. **Geleneksel Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen Lactobacillus Delbrueckii Subsp. Bulgaricus ve Streptococcus Thermophilus Suşlarının Endüstriyel Yoğurt Üretimine Uygunluğunun Saptanarak Starter Kombinasyonlarının Gelistirilmesi**. Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Vatansever, C., 2016. **Gıda Endüstrisinde Kullanılan Glukomannan Yapılı Biyopolimerlerin Kompozisyonel, Moleküler, Termal ve Arayüzey (Hava/Su)**

Özelliklerinin Belirlenmesi (Yüksek lisans tezi), Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Vodnar, D. C., Socaciu, C., Rotar, A. M., Stănilă, A., 2010. Morphology, FTIR fingerprint and survivability of encapsulated lactic bacteria (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) in simulated gastric juice and intestinal juice. **International Journal of Food Science and Technology**, **45**(11): 2345-2351.
- Xiao, Y., Han, C., Yang, H., Liu, M., Meng, X., Liu, B., 2020. Layer (whey protein isolate)-by-layer (xanthan gum) microencapsulation enhances survivability of *L. bulgaricus* and *L. paracasei* under simulated gastrointestinal juice and thermal conditions. **International Journal of Biological Macromolecules**, **148**:238-247.
- Xu, C., Ma, J., Wang, W., Liu, Z., Gu, L., Qian, S., Jiang, Z., 2022. Preparation of pectin-based nanofibers encapsulating *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 by electrospinning. **Food Hydrocolloids**, **124**: 107216.
- Yadav, K., Bajaj, R. K., Mandal, S., Saha, P., & Mann, B., 2018. Evaluation of total phenol content and antioxidant properties of encapsulated grape seed extract in yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, **71**(1), 96-104.
- Yalçın, M., Argun, M. Ş., 2017. Bitlis Eren Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinin süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıklarının ve etkileyen faktörlerin belirlenmesi. **Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, **6**(1): 51-60.
- Yangılar, F., 2015. Probiyotik mikroorganizmaların biyokoruyucu özelliği. **Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering**, **20**(1): 119-130.
- Yılmaz, L., 2006. **Yoğurt Benzeri Fermente Süt Ürünleri Üretiminde Farklı Probiyotik Kültür Kombinasyonlarının Kullanımı** (Doktora tezi), Bursa Uludağ Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Yılmaz, M. T., Taylan, O., Karakas, C. Y., Dertli, E., 2020. An alternative way to encapsulate probiotics within electrospun alginate nanofibers as monitored under simulated gastrointestinal conditions and in kefir. **Carbohydrate Polymers**, **244**: 116447.
- Yoğurt., 2021.TS 1330. Yoğurt standardı, <https://intweb.tse.org.tr>. Erişim tarihi: 03.08.2022
- Youssef, M., Korin, A., Zhan, F., Hady, E., Ahmed, H. Y., Geng, F., Li, B., 2021. Encapsulation of *Lactobacillus salivarius* in single and dual biopolymer. **Journal of Food Engineering**, **294**:110398.
- Yurdakök, M., 2015. Yoğurdun öyküsü: **Probiyotiklerin Tarihi. Güneş Tıp Kitabevleri**.
- Zhu, H., Hu, H., Ye, M., Ye, J., Wang, D., 2021. PbS1– xSex-Quantum-Dot@MWCNT/P3HT Nanocomposites with Tunable Photoelectric Conversion Performance. **Inorganics**, **9**(12): 87.

ÖZ GEÇMİŞ

Abdullah DEMİRCİ, ilköğrenimi Ordu Akkuş ve orta-lise öğrenimi Ordu Fatsa ilçesinde tamamladı. 2005 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümüne yerleşti ve 2009 yılında mezun oldu. 2009-2014 yılları arasında özel sektörde çalıştı. 2014 yılında Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesine Öğretim Görevlisi olarak atanıp üniversitenin Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında alan dışı olarak 2015 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 2017 yılında yüksek lisans tezini tamamlayarak 2018 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde doktora eğitimine başladı. Evli ve üç çocuk babası olup, halen Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih. 11/01/2023

Tez başlığı: **Geleneksel Yoğurt Starter Kültürlerinin Elektroeğirme Yöntemiyle Nanoenkapsülasyonu ve Yoğurt Üretimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 106 (20548 kelime) sayfalık kısmına ilişkin, 11/01/2023 tarihinde Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından (Gönderim no: 1991200985) aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı %10 (yüzde on) dur.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve imza

Adı soyadı: Abdullah DEMİRCİ

Öğrenci no: 17910001212

Anabilim dalı: Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Programı: Gıda Mühendisliği

Statüsü: () Yüksek lisans (X) Doktora

DANIŞMAN

ENSTİTÜ ONAYI

UYGUNDUR

UYGUNDUR