



**NAR KABUĞU EKSTRAKTININ MİKROALG ÜZERİNE
ENKAPSÜLE EDİLMESİNİN ANALİTİK
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

NURAY YAĞMUR



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NAR KABUĞU EKSTRAKTININ MİKROALG ÜZERİNE ENKAPSÜLE
EDİLMESİNİN ANALİTİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Nuray YAĞMUR
0000-0001-7559-3320

Prof. Dr. Saliha ŞAHİN
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

NAR KABUĞU EKSTRAKTININ MİKROALG ÜZERİNE ENKAPSÜLE EDİLMESİNİN ANALİTİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Nuray YAĞMUR

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Saliha ŞAHİN

Tez çalışmamızda doğal kaynaklı nar kabuğunda bulunan antioksidan maddeler ekstrakte edildikten sonra, ekstraktların antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Yapılan kromatografik analiz çalışmalarına göre ekstraktta ellagik asit, punikalin, punikalagin ve *p*-kumarik asit tayin edilmiştir. Daha sonra *Spirulina* yüzeyine nar kabuğu ekstraktının maksimum verimle mikroenkapsülasyonu için Box-Behnken tasarımı (BBD) ile birleştirilmiş yanıt yüzeyi yöntemi (RSM) uygulanmış ve enkapsülasyon başarıyla gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon sonucunda sıcaklık 29°C, enkapsülasyon süresi 35 dk ve ekstrakt/mikroalg oranı 2,93 mL/g olarak belirlenmiştir. Nar kabuğu-mikroalg çiftinin yapısal tayinleri FT-IR, DSC ve SEM cihazları kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen nar kabuğu-mikroalg çiftinin *in-vitro* gastrointestinal koşullarda mide ve bağırsak ortamında ellagik asit salınımı incelenmiştir. Nar kabuğu ekstraktı, nar kabuğu-mikroalg çiftinin ve mikroalgin direkt eklenerek üretildiği 6 farklı yoğurt örneği fizikokimyasal, mikrobiyolojik, spektroskopik ve duysal/tekstür özellikleri bakımından değerlendirilmiştir. *Spirulina* mikroalginin yoğurda eklenmesiyle protein seviyesinin daha da arttığı gözlemlenmiş, dolayısıyla tüketiminde insan sağlığı açısından fayda sağlayacağı düşünülmüştür. Aynı zamanda yüksek antioksidan özelliği ile katıldığı yoğurda antioksidan özellik de kazandırmıştır. Protein dışındaki değerli besin öğelerini içermesi ve doğal kaynaklı olması nedeniyle fonksiyonelliği artırılmış doğal bir ürün elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enkapsülasyon, yoğurt, antioksidan madde, mikroalg, nar kabuğu
2022, xv + 144 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

THE EVALUATION OF ENCAPSULATION POMEGRANATE PEEL EXTRACT ONTO MICROALGAE BY ANALYTICAL METHODS

Nuray YAĞMUR

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Saliha ŞAHİN

In this thesis study, after extracting the antioxidant substances found in the naturally sourced pomegranate peel, the antioxidant properties of the extracts were determined. According to the chromatographic analysis studies, ellagic acid, punicalin, punicalagin and *p*-coumaric acid were determined in the extract. Then, the response surface methodology (RSM) combined with the Box-Behnken design (BBD) was applied to the *Spirulina* surface for microencapsulation of the pomegranate peel extract with maximum efficiency and the encapsulation was successfully carried out. As a result of the optimization, the temperature was 29°C, the encapsulation time was 35 min and the extract/microalgae ratio was determined as 2.93 mL/g. Structural determinations of the pomegranate peel-microalgae pair were made using FT-IR, DSC and SEM devices. The release of ellagic acid in the stomach and intestinal environment of the obtained pomegranate peel-microalgae pair was investigated *in-vitro* gastrointestinal conditions. Pomegranate peel extract was evaluated in terms of physicochemical, microbiological, spectroscopic and sensory/texture properties of pomegranate peel-microalgae pair and 6 different yoghurt samples produced by adding microalgae directly. It was observed that the protein level increased with the addition of *Spirulina* microalgae to yoghurt, and it was thought that its consumption would be beneficial for human health. At the same time, it added antioxidant properties to yoghurt with its high antioxidant properties. Due to the fact that it contains valuable nutrients other than protein and is of natural origin, a natural product with increased functionality has been obtained.

Key words: Encapsulation, yoghurt, antioxidant, microalgae, pomegranate peel
2022, xv + 144 pages.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmasında, doğal kaynaklı antioksidan özelliği olan *Spirulina* mikroalginin üzerine nar kabuğu ekstraktı enkapsüle edilmiş, elde edilen mikroalg-antioksidan çifti yoğurt üretim prosesinde ortama eklenmiştir. Çalışmalar hem Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Kromatografi Araştırma Laboratuvarı hem de Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde sürdürülmüştür.

Tezimin ve akademik kariyer projemin her aşamasında bilgisini, tecrübesini, desteğini esirgemeyen, yoluma ışık tutan, 'Danışman' kavramının her niteliğini bünyesinde layığıyla taşıyan, sabırla ilerlediğimiz bu yolda bana daima güç ve cesaret veren, öğrencisi olduğum için onur ve gurur duyduğum, çok kıymetli canım danışman hocam Prof. Dr. Saliha ŞAHİN'e özel şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Analizlerim sırasında ve sonrasında yorumlamada bilgilerini ve desteklerini paylaşan, tezimin gelişmesinde bilimsel anlamda beni hazırlayan ve yetiştiren değerli Tez İzleme Komitesi hocalarım Prof. Dr. Lutfiye YILMAZ ERSAN ve Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmamın her aşamasında büyük emeği geçen ve yakın desteğini gördüğüm canım arkadaşım Yüksek Kimyager Büşra KARKAR'a ve değerli hocam Doç. Dr. Önder AYBASTIER'e teşekkürlerimi sunarım.

Yoğurt üretiminde kullandığım starter kültür bakterileri suşlarımın temininde yardımlarını esirgemeyen, değerli katkıları için Chr. Hansen's Laboratorium Denmark A/S'nin İstanbul'daki temsilcisi Peyma Sanayi A.Ş.'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasında TAGEM/HSGYAD/A/19/A3/P1/938 proje no'su ile desteklerini sunan Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca en zor anlarımda bana güç veren, maddi ve manevi destekleriyle daima yanımda hissettiren kıymetlilerim biricik annem Emine AKGÜN ve babam Yunis AKGÜN'e, kızkardeşten öte olan hayattaki danışmanım canım ablam Fatma KAYAHAN'a, hayatına dahil olduğum andan itibaren hayatımın en büyük destekçisi olmuş, yoğun çalışma ortamıma uyum sağlayıp her anımda beni yalnız bırakmayan canımın içi eşim Burak YAĞMUR'a ve değerli ailesine, tez çalışmalarımın tam ortasında dünyanın merkezine oturan, hayatıma renk katmış, pozitif enerjimi ve gücümü kendisinden aldığım biricik oğlum Yekta YAĞMUR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım, iyi ki benimlesiniz..

Nuray YAĞMUR
05/07/2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	4
2.1. Algler	4
2.2. Mikroalgler.....	6
2.3. <i>Spirulina</i>	6
2.4. Antioksidan Maddeler.....	9
2.5. Nar (<i>Punica granatum</i> L.).....	10
2.6. Enkapsülasyon	14
2.7. Enkapsülasyon Yönteminin Gıda Endüstrisinde Kullanımı	19
2.8. Yoğurt	21
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. <i>Spirulina</i> mikroalgi	25
3.1.2. Nar meyvesi	25
3.1.3. Çiğ süt	25
3.1.4. Süt tozu	25
3.1.5. Starter kültür.....	25
3.1.6. Cihazlar	26
3.1.7. Kimyasallar	28
3.1.8. Sarf malzemeler	29
3.1.9. Çözeltiler	30
3.2. Yöntem	34
3.2.1. <i>Spirulina</i> mikroalgi ile yapılan çalışmalar	35
3.2.2. Nar kabuğu ekstraktının hazırlanması ve analizi	36
3.2.3. Enkapsülasyon çalışmaları	40
3.2.4. FT-IR, DSC ve SEM analizleri çalışmaları.....	42
3.2.5. Adsorpsiyon izoterm çalışmaları	43
3.2.6. Fotokimyasal kararlılık çalışmaları.....	43
3.2.7. Optimizasyon çalışmaları.....	44
3.2.8. Simüle edilen gastrointestinal koşullar altında kontrollü salınım çalışmaları	47
3.2.9. Yoğurt üretimi	49
3.2.10. Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Spektroskopik, Duyusal/Tekstür ve İstatistiksel Analizler	53
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	63
4.1. <i>Spirulina</i> Mikroalgi ile Yapılan Çalışmalar	63
4.2. Nar Kabuğu Ekstraktlarının Analizi.....	64
4.3. Enkapsülasyon Çalışmaları	69
4.4. FT-IR, DSC ve SEM Analizleri Çalışmaları	70
4.5. Adsorpsiyon İzoterm Çalışmaları	75
4.6. Fotokimyasal Kararlılık Çalışmaları	77

4.7. Optimizasyon Çalışmaları.....	78
4.8. Simüle Edilen Gastrointestinal Koşullar Altında Kontrollü Salınım Çalışmaları ...	82
4.9. Yoğurt Üretimi.....	86
4.10. Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Spektroskopik, Duyusal/Tekstür ve İstatistiksel Analizler	87
5. SONUÇ	131
KAYNAKLAR	134
ÖZGEÇMİŞ	144



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

ssp	Alt tür
dk	Dakika
cm ⁻¹	Dalga sayısı
g	Gram
h/h	Hacim/Hacim
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
F	Kjeldahl Protein Dönüşüm Faktörü
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
qm	Maksimum Adsorpsiyon Kapasitesi
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ppm	Milyonda bir
M	Molarite
n	Örnek Sayısı
R ²	Korelasyon Katsayısı
Rpm	Dakikadaki devir sayısı

Kısaltmalar

Açıklama

ABD	Amerikan Birleşik Devletleri
A.Ş.	Anonim Şirketi
AQ	Aqua
Ar-Ge	Araştırma Geliştirme
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
BSAE	Sığır Serum Albumin Eşdeğeri
BHA	Butillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Butillenmiş Hidroksi Toluen
MRS	De Man, Rogosa ve Sharpe
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC	Gaz Kromatografisi
HPLC- DAD	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Diod Serili
	Dedektör
EE	Kapsülleme Etkinliği

EY	Kapsülleme Verimliliği
LA	Laktik Asit
<i>L. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>
LC	Sıvı Kromatografisi
PVDF	Poliviniliden diflorür
PG	Propil gallat
AOAC	Resmi Analitik Kimyagerler Derneği
SGF	Simüle Edilmiş Mide Sıvısı
SIF	Simüle Edilmiş Bağırsak Sıvısı
Std. Sapma	Standart Sapma
<i>S. thermophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
LOQ	Tayin limiti
LOD	Tespit limiti
UV/VIS	Ultraviyole/Görünür bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. BHT ile serbest radikalin gerçekleştirdiği tepkime	1
Şekil 1.2. Mikroenkapsül oluşumu	3
Şekil 2.1. Makroalg (Spagetti Alg)	5
Şekil 2.2. Mikroalg (<i>Chlorella vulgaris</i>)	6
Şekil 2.3. <i>Spirulina platensis</i>	7
Şekil 2.4. Nar	11
Şekil 2.5. Enkapsülasyonda aktif bileşenler (öz) ve enkapsülasyon matriksi (kabuk) ...	15
Şekil 2.6. Kapsülleme tipleri	17
Şekil 3.1. Nar kabuğu ekstraksiyonu işlem basamakları	37
Şekil 3.2. Yoğurt üretim prosesi işlem basamakları	51
Şekil 3.3. Üretilen 6 farklı yoğurt örneği	53
Şekil 3.4. Duyusal muayene form örneği	62
Şekil 4.1. <i>Spirulina</i> hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (450 nm)	64
Şekil 4.2. Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (360 nm)	65
Şekil 4.3. Nar kabuğu sulu ekstraktının HPLC kromatogramı (360 nm)	65
Şekil 4.4. Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (280 nm)	66
Şekil 4.5. Nar kabuğu sulu ekstraktının HPLC kromatogramı (280 nm)	67
Şekil 4.6. 2., 4. ve 6. saat aralıklarında tutunma yüzdesi (%) grafiği	69
Şekil 4.7. FTIR spektrumları	71
Şekil 4.8. Ellagik asit, yüklü ve yüklü olmayan <i>Spirulina</i> 'ların DSC termogramları	72
Şekil 4.9. Yüklü ve yüklü olmayan <i>Spirulina</i> 'ların yüzeylerinin SEM görüntüleri	74
Şekil 4.10. Adsorpsiyon izotermi grafikleri	76
Şekil 4.10. Adsorpsiyon izotermi grafikleri (devam)	77
Şekil 4.11. Enkapsüle edilen antioksidan maddenin fotokimyasal kararlılığı	78
Şekil 4.12. Yanıt yüzeyi grafikleri.	81
Şekil 4.12. Enkapsüllenen ellagik asidin <i>in vitro</i> sindirimde salınımı	84
Şekil 4.13. Renk ölçümü sonuçlarının değerlendirmesinde kullanılan renk skalası	118
Şekil 4.14. Üretilen yoğurtların satın alma niyeti	130

ÇİZELGELER DİZİNİ

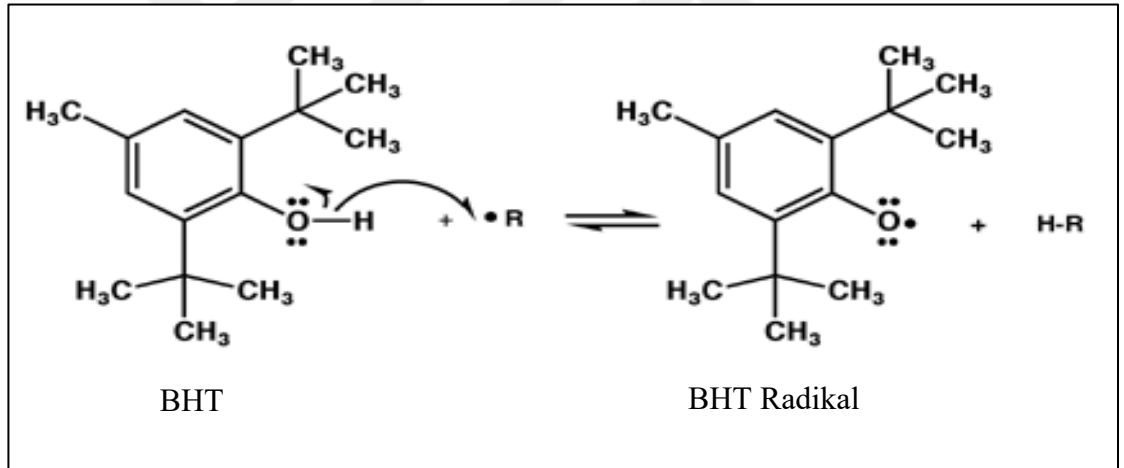
	Sayfa
Çizelge 2.1. Enkapsülasyon teknikleri	15
Çizelge 3.1. Cihazların özellikleri ve kullanım amaçları	26
Çizelge 3.1. Cihazların özellikleri ve kullanım amaçları (devam).....	27
Çizelge 3.2. Kimyasallar	28
Çizelge 3.2. Kimyasallar (devam).....	29
Çizelge 3.3. Sarf malzemeler	29
Çizelge 3.3. Sarf malzemeler (devam).....	30
Çizelge 3.4. Çalışma metodolojisi	34
Çizelge 3.5. Enkapsülasyon işlemine ilişkin deneme deseni	41
Çizelge 3.6. BBD’de kullanılan bağımsız değişkenler ve aralıkları	45
Çizelge 3.7. BBD’de enkapsülasyon için tasarlanan deney tablosu	46
Çizelge 3.8. Yoğurt üretimine ilişkin deneme deseni	50
Çizelge 3.9. Fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal/tektür analizlerin listesi	54
Çizelge 3.10. Yoğurtlarda yapılan analizlere ait deneme deseni	57
Çizelge 4.1. <i>Spirulina</i> mikroalginin toplam protein miktarı tayini.....	63
Çizelge 4.2. Karotenoidlerin HPLC-DAD analiz koşulları	64
Çizelge 4.3. Nar kabuğu ekstraktlarında bulunan ellagik asit miktarı	66
Çizelge 4.4. Kalibrasyon grafikleri	67
Çizelge 4.5. Nar kabuğu ekstraktlarında bulunan fenolikler	68
Çizelge 4.6. Geri kazanım çalışmaları (n=3)	68
Çizelge 4.7. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde tayin sonuçları	69
Çizelge 4.8. Langmuir ve Freundlich izoterm model parametreleri	75
Çizelge 4.9. Ellagik asidin mikroalg-nar kabuğu ekstraktlarındaki kararlılığı	78
Çizelge 4.10. Box-Behnken tasarımı	79
Çizelge 4.11. Enkapsülasyon optimizasyonu için ANOVA analizi.....	80
Çizelge 4.12. Yoğurtların üretim aşamasındaki inkübasyon süreleri	86
Çizelge 4.13. Çiğ sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	87
Çizelge 4.14. Yağsız süt tozunun bazı özellikleri	88
Çizelge 4.15. Yoğurtlarda yapılan fizikokimyasal analizlerin sonuçları	89
Çizelge 4.16. Yoğurtların % kuru madde değerleri değişimi.....	90
Çizelge 4.17. Yoğurtların % yağ değerleri değişimi.....	91
Çizelge 4.18. Yoğurtların % süt yağsız kuru madde değerleri değişimi.....	91
Çizelge 4.19. Yoğurtların pH değerleri değişimi	92
Çizelge 4.20. Yoğurtların % LA titre edilebilir asitlik değerleri değişimi.....	93
Çizelge 4.21. Yoğurtların % kül değerleri değişimi	94
Çizelge 4.22. Yoğurtların % toplam protein değerleri değişimi	95
Çizelge 4.23. Yoğurtların % laktoz değerleri değişimi.....	96
Çizelge 4.24. Fizikokimyasal özelliklerin istatistik analizi	97
Çizelge 4.25. Yoğurtlarda yapılan mikrobiyolojik analizlerin sonuçları.....	98
Çizelge 4.26. Yoğurtların laktik asit bakterileri sayıları değişimi	99
Çizelge 4.27. Laktik asit bakterileri sayılarının istatistik analizi	99
Çizelge 4.28. Yoğurtların serum ayrılması değerleri değişimi	101
Çizelge 4.29. Serum ayrılması değerlerinin istatistik analizi.....	101
Çizelge 4.30. Yoğurtlarda yapılan spektroskopik analizlerin sonuçları	103
Çizelge 4.31. Yoğurtların spektroskopik analiz değerleri değişimi	105
Çizelge 4.32. Spektroskopik analiz değerlerinin istatistik analizi	106

Çizelge 4.33. Yoğurtlarda yapılan organik asit analizlerinin sonuçları	107
Çizelge 4.34. Yoğurtların laktik asit değerleri değişimi	108
Çizelge 4.35. Yoğurtların sitrik asit değerleri değişimi	108
Çizelge 4.36. Yoğurtların ürik asit değerleri değişimi	109
Çizelge 4.37. Organik asit değerlerinin istatistik analizi	110
Çizelge 4.38. Yoğurtlarda yapılan uçucu organik bileşen analizinin sonuçları	111
Çizelge 4.39. Yoğurtların uçucu organik bileşen değerleri değişimi	112
Çizelge 4.40. Uçucu organik bileşen değerlerinin istatistik analizi	113
Çizelge 4.41. Yoğurtlarda yapılan tekstür profil analizlerinin sonuçları	114
Çizelge 4.42. Yoğurtların sıklık değerleri değişimi	115
Çizelge 4.43. Yoğurtların kıvam değerleri değişimi	115
Çizelge 4.44. Yoğurtların iç yapışkanlık değerleri değişimi	116
Çizelge 4.45. Yoğurtların viskozite değerleri değişimi	116
Çizelge 4.46. Tekstür profil analiz parametre değerlerinin istatistik analizi	117
Çizelge 4.47. Yoğurtlarda yapılan renk ölçümü sonuçları	119
Çizelge 4.48. Yoğurtların L değerleri değişimi	120
Çizelge 4.49. Yoğurtların a değerleri değişimi	120
Çizelge 4.50. Yoğurtların b değerleri değişimi	121
Çizelge 4.51. Renk ölçümü değerlerinin istatistik analizi	122
Çizelge 4.52. Yoğurtların duyuşal muayene testi sonuçları	124
Çizelge 4.53. Yoğurtların renk değerleri değişimi	125
Çizelge 4.54. Yoğurtların görünüş değerleri değişimi	125
Çizelge 4.55. Yoğurtların kıvam (kaşıkta) değerleri değişimi	126
Çizelge 4.56. Yoğurtların kıvam (ağızda) değerleri değişimi	126
Çizelge 4.57. Yoğurtların koku değerleri değişimi	127
Çizelge 4.58. Yoğurtların tat değerleri değişimi	127
Çizelge 4.59. Yoğurtların duyuşal asitlik değerleri değişimi	128
Çizelge 4.60. Yoğurtların genel kabul edilebilirlik değerleri değişimi	128
Çizelge 4.61. Duyuşal muayene test parametreleri değerlerinin istatistik analizi	129

1. GİRİŞ

Antioksidanlar; oksidasyonu engelleyici veya azaltıcı, aynı zamanda dokularda oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyici ve koruyucu maddeler olarak bilinirler. Gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmakta olup, dahil oldukları gıdaların raf ömürlerini uzatırlar.

Günümüzde gıda ürünlerine eklenen doğal katkı maddelerinin yerini çok çeşitli sentetik ve kimyasal antioksidanlar (BHA, BHT, PG vb.) almaktadır. Ülkemizde gıda sektöründe bu sentetik, kimyasal katkı maddeleri gıdaların raf ömrünü uzatmak, oksidasyon ve acıma gibi bozulma reaksiyonlarını önlemek için kullanılmaktadır. Aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi, serbest radikallerle girdikleri reaksiyonlar sonucu oksidasyon reaksiyonlarını engeller (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. BHT ile serbest radikalin gerçekleştirdiği tepkime <https://iverson.cm.utexas.edu/courses/310N/MOTD%20F105/MOTDf103/BHT.html>: Erişim tarihi: 01.06.2019

Bu ve benzeri sentetik ve kimyasal antioksidanların dahil edildikleri gıdalarda, koruyucu etkilerinin yanı sıra insan sağlığı üzerinde toksik etkileri de bulunmaktadır. Örneğin, BHT (Bütil hidroksi tolüen), çevresel koşullara bağlı olarak toksik özellikler sergilemekte ve doğrudan ciltle temasında vücutta akciğer dokusuna nüfuz etmektedir (Toxicology, 2002).

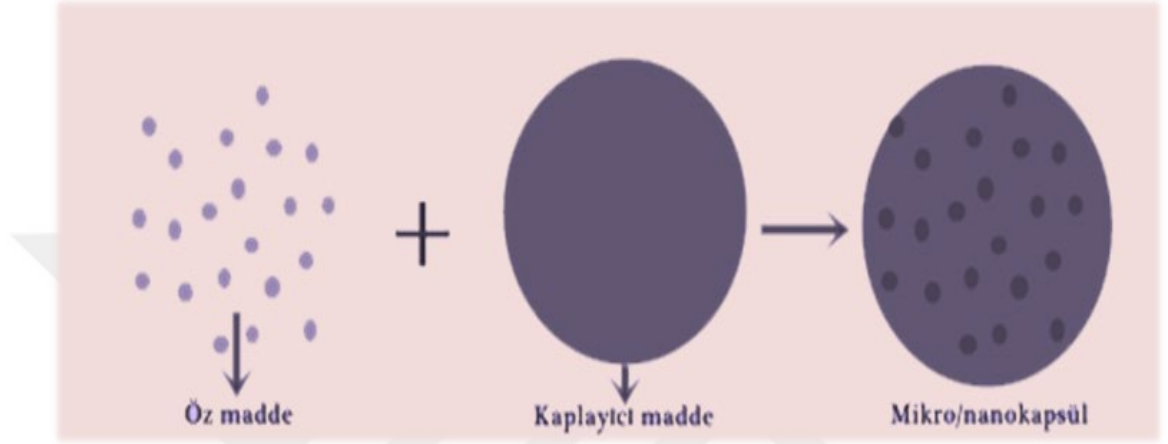
Bu nedenle BHT gibi antioksidanların kullanımı insan sağlığı için büyük tehlike arz etmektedir. Bu maddeler gıdaların doğal özelliklerini kaybetmelerine neden olduğundan kullanımları sakıncalı ve yasaktır. Fonksiyonel grupları (antioksidanlar, koruyucular, renklendiriciler, tatlandırıcılar vb.) tanımlanmış olan gıda katkı maddelerinin doğal kaynaklardan üretimi, gıda güvenliği açısından öncelik verilmesi gereken ve hedeflenen Ar-Ge konularındandır. Dolayısıyla, gıda ürünlerinde antioksidan koruyucu olarak doğal ürünlerin kullanılması son derece önemlidir.

Literatürdeki son çalışmalarda bitkiler (tahıllar, yağlı tohumlar, meyveler, sebzeler, baharatlar ve çaylar), hayvansal ürünler (amino asitler, peptidler ve karotenoidler), enzimler (katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz) ve bazı mikroorganizmalar doğal antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. Birçok rapor, bu tür doğal antioksidanların bazen sentetik antioksidanlardan daha etkili olduğunu belirtmiştir.

Günümüzde yüksek protein içeriğine sahip, yağda ve suda çözünen lifleri olan ve zengin mineralli mikroalgler gıda olarak t ketimdedir. Fenoller, flavonoidler ve tanenler gibi fenolik bileşenler içerdiklerinden, antioksidan etkiye sahiptirler. Son zamanlarda popülerlik kazanan algler, gıda alanında rahatlıkla kullanılabilmektedir. Bu tez kapsamında en önemli alglerden biri olan ve besin değeri yüksek doğal bir antioksidan kaynağı *Spirulina* mikroalgi kullanılmıştır. "Süper besin" olarak da tanınan *Spirulina*, bir tür siyanobakteridir.

Gıdalarda antioksidan koruyucu olarak doğal ürünlerin kullanılması son derece önemlidir. Tez çalışmasında kullanılan bir diğer doğal ürün ise nar kabuğudur. Nar; içerdiği flavonoidler, polifenoller, antosiyaninler, tanenler, punikalagin ve punikalın gibi yüksek antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşikler nedeniyle son yıllarda en çok çalışılan değerli meyvelerden biri haline gelmiştir. Özellikle narın kabuğunun besin içeriği, suyuna oranla daha fazladır ve ekstraktlarının gösterdiği antioksidan, anti-kanser, antibakteriyel ve anti-inflamatuar etkilere ait bilgiler literatürde yer almaktadır.

Tez çalışmasında doğal kaynaklı antioksidan özellikte mikroalg üzerine başka bir antioksidan madde tutturulmuş ve mikroalg-antioksidan madde çifti elde edilmiştir. Dolayısıyla antioksidan özelliğin ve mikroalg üzerinde enkapsüle edilen antioksidan maddenin zamana bağlı kullanım ömrünün artırılması hedeflenmektedir. Bu nedenle mikroenkapsülasyon yöntemi tez çalışmasında önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Mikroenkapsül oluşumu <https://mivegida.com/bilgi-merkezi/enkapsulasyon-teknolojisi/>; Erişim tarihi: 01.06.2019

Avantajlı bir uygulama yöntemi olan mikroenkapsülasyon, son zamanlarda gıda üreticilerinin dikkatini çekmektedir. Alglerle doğal antioksidan maddelerin immobilizasyonu da yaygın olarak kullanımdadır. Bu tez çalışmasında hassas olan içeriğinin oksijen, ışık, asit, alkali gibi dış etmenlere karşı korunması amacıyla nar kabuğu ekstraktlarının *Spirulina* mikroalg yüzeyine mikroenkapsülasyonu (tutturma) gerçekleştirilmiştir. Burada kaplama materyali olarak mikroalg, aktif bileşen olarak da iki farklı ortamda elde edilmiş nar kabuğu ekstraktları kullanılmıştır.

Daha sonra elde edilen mikroenkapsüllerin gıda ürünlerinde doğal kaynaklı antioksidan madde olarak kullanılabilirliği yoğurt üzerinde denenmiştir. Yoğurt üretim prosesinde ortama eklenen mikroalg-antioksidan çiftinin, yoğurt depolama koşullarındaki etkisi ve koruyucu madde olarak kullanılabilirliği incelenmiştir. Elde edilen yoğurdun antioksidan özelliğinin artırılması, besin kalitesinin ve fonksiyonelliğinin iyileştirilmesi tez çalışması hedefleri arasındadır. Elde edilen sonuçlar ile doğal antioksidanların sentetik antioksidan maddelere alternatif olarak gıdalarda kullanımı araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Algler

Latince’de "su yosunu" anlamına gelen algler, deniz ekosisteminde en önemli canlı kaynaklarından olup fotosentez ile ilk üretimi gerçekleştiren primer üretici canlılardır ve besin zincirinin önemli bir parçasını oluştururlar. Alglerden günümüzde gıda, tarım, kozmetik, tıp, eczacılık, biyoteknoloji, enerji, kimya ve endüstri dallarında yararlanılmaktadır. Fotosentetik karbon üretimine büyük katkı sağlayan algler, güneşte veya yapay kurutucularda kurutulduktan sonra gıda olarak da tüketilebilmektedir (Özdemir ve Erkmen, 2013). Çeşitli salataları, yemekleri, çorbaları, sosları ve çayları hazırlanabilmektedir (Oğur, 2016). Çin, Japonya ve Kore’de birkaç yüzyıl önce başlayan bu akım, şimdilerde diğer ülkelere de yayılmıştır. Özellikle diyet ürünü olarak daha çok kabul görmüştür.

Alglerin içeriğinde asit, amin, enzim, alkaloit, selüloz, glikozit, iz elementler (Al, B, Ca, Co, Cr, F, Fe, Ga, K, Mg, Mn, Na, Ni, Zn) ve inorganik mineraller, lipitler, yağ asitleri, steroller, steroidler, fenolik bileşenler (antosiyenin, fenil propanoit, fenolik asit, flavonoit, kinon, kumarin, lignan, şikimat, şikimik asit, tanen), fitohormonlar (giberellin, öksin), protein, peptit, aminoasit, vitaminler (B1, B2, B12, C, E, H, K, folik asit, nikotinik asit, pantotenik asit), pigmentler ve uçucu bileşenler (akrilik, aldehit, alkol, asetik, butirik, fenol, formik, miristik, palmitik asit, terpenler) gibi çok değerli bileşenler bulunmaktadır (Brownlee ve diğerleri, 2005; Chapman ve Buchheim, 1992; McCourt, 1995).

Bir diğer araştırmada; alglerde yağ asitleri, steroidler, karotenoitler, polisakkaritler, lektinler, mikosporin benzeri amino asitler, halojenli bileşikler, poliketitler ve toksinlerin varlığı vurgulanmıştır (Cardozo ve diğerleri, 2007).

Alglerle ilgili yapılan çalışmalar antimikrobiyal, sitotoksik, antimutojenik, antikanser ve antitümöral etkilere sahip olduklarını göstermiştir. Ayrıca bünyelerindeki fenol, flavonoid ve tanen gibi fenolik yapıdaki bileşenler antioksidan aktivite ve serbest

radikal süpürücü etkiyi de desteklemektedir (Al-Saif ve diğerleri, 2014; Li ve diğerleri, 2007; Meenakshi ve diğerleri, 2011).

Algler kendi aralarında yapısal olarak mikroalg (prokaryotik) ve makroalg (ökaryotik) olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılırlar. Mikroalgler “Mavi-yeşil algler” (*Cyanophyta*) olarak anılırlar (Şekil 2.2). Makroalgler ise kamçı taşımalarına veya pigmentasyonlarına göre; Kahverengi algler (*Phaeophyta*), Kırmızı algler (*Rhodophyta*), Yeşil algler (*Chlorophyta*), Diyatomeleler (*Chrysophyta*) ve Kamçılı algler (*Flagellata*) olarak kendi içinde sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.1). Gıda olarak daha çok makroalgler tüketilmektedir. Endüstriyel üretimde daha çok denizel makroalgler hammadde olarak kullanılmaktadır. Çünkü mikroalglerin üretiminde kontaminasyon riski ve hasatlarında zorluklar yaşanmaktadır (Özdemir ve Erkmen, 2013).



Şekil 2.1. Makroalg (Spagetti Alg) <https://www.atlasakvaryum.com/index.php?id=358>:
Erişim tarihi: 01.06.2019



Şekil 2.2. Mikroalg (*Chlorella vulgaris*) <http://yua.gmp-factory.com/superfood/organic-powder/organic-chlorella-vulgaris-powder-protein.html>: Erişim tarihi: 01.06.2019

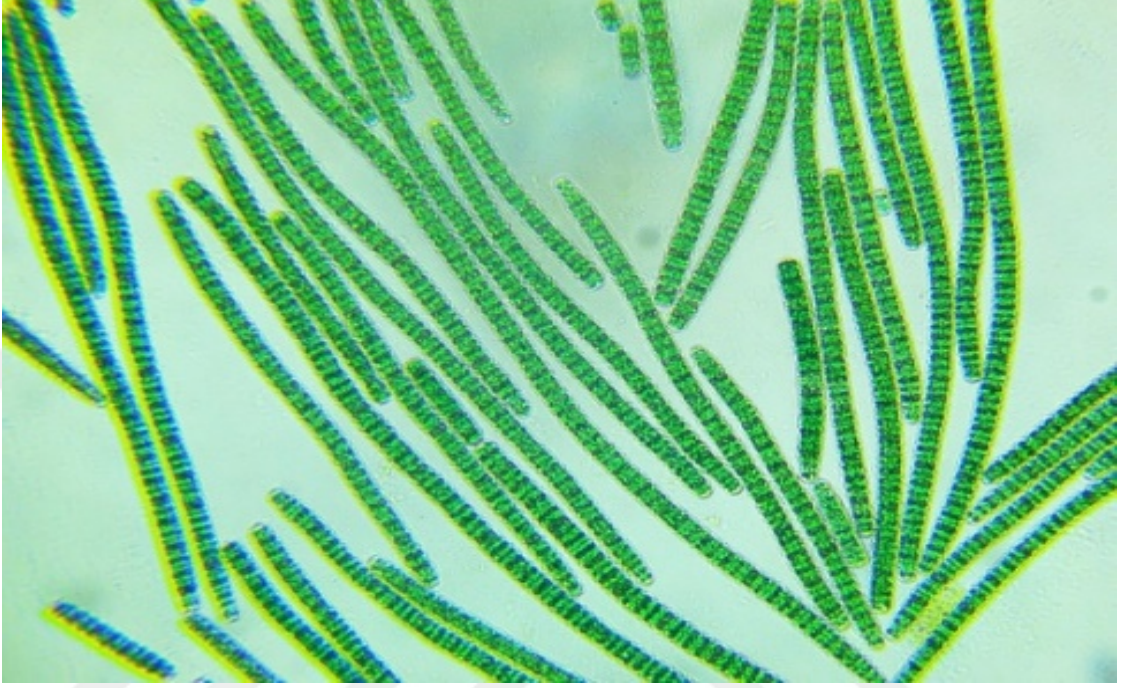
2. 2. Mikroalgler

Mikroalgler, doğal ortamlarının sıcaklık, pH, tuzluluk, ışık yoğunluğu, basınç gibi zorlu ve sert koşullarına uyum sağlayan mekanizmaları olan tek hücreli mikroorganizmalardır. Bu koşullara geniş bir alanda biyolojik olarak aktif sekonder metabolitleri sentezleyerek adapte olurlar (Markou ve Nerantzis, 2013). Çeşitli çalışmalar mikroalglerin içeriğindeki çoklu doymamış asitler, vitaminler, pigmentler, polifenoller, polisakaritler ve proteinlerden dolayı antioksidan (Herrero ve diğerleri, 2012), antiinflamatuvar (Vázquez ve diğerleri, 2011) ve antimikrobiyal (Al-Saif ve diğerleri, 2014) özelliklerini vurgulamıştır.

2. 3. Spirulina

Bilimsel adı *Arthrospira platensis* olan "mavi-yeşil alg" türü olarak bilinen *Spirulina*, spiral filamentöz yapısına sahip bir siyanobakteri cinsidir (Small, 2011). Mikroskobik spiraller şeklinde büyür. Bu spiraller birbirilerine yapışma eğiliminde olduğundan hasatı da kolay olur (Şekil 2.3). Koyu mavi-yeşil bir rengi vardır ve göreceli olarak da

yumuşak bir tada sahiptir. Hücre duvarı, sindirilemez selüloz yerine mukopolisakkaritlerden oluştuğu için, insan sindirim sistemi tarafından kolaylıkla parçalanır ve vücudun biyokimyasında hızla asimile olurlar (Belay ve diğerleri, 1993).



Şekil 2.3. *Spirulina platensis* <https://www.antioksidan.info/spirulina-detay/ganoderma-lucidum/spirulina/spirulina-detay>: Erişim tarihi: 01.06.2019

Spirulina yaklaşık ağırlıkça %60-70 oranında protein ve %4 vitamin (özellikle A, B1, B2, B6, B12, D, E ve K) içeriğine sahip mikroskobik filamentli bir yosundur. Bunun dışında, mikro ve makro mineraller (Fe, Ca, P, Mg, Cr), çeşitli karotenoidler (karoten, klorofil, fikosiyenin, zeaksantin) ve polisakkaritleri de bünyesinde barındırır. Beyin fonksiyonu, üreme sağlığı, büyüme ve gelişme, deri ve saç büyümesi, kemik sağlığı ve metabolizma regülasyonunda önemli rol oynayan omega-6 yağ asidine de sahiptir. Bu yağ asidi en çok linoleik asit şeklinde tüketilir ve vücutta γ -linolenik aside dönüştürülürken, *Spirulina* bu yağ asidinin tam formunu içerir, etkili emilim ve güçlü etki sağlar.

Spirulina ticari olarak üretilmekte ve dünya genelindeki gıda mağazalarında bir gıda takviyesi olarak satılmaktadır. Aynı zamanda diyet ürünü besin takviyesi, sakız, şeker veya diğer ambalajlı yiyeceklerde gıda boyası olarak günümüzde kullanımı vardır.

Günümüzde bilim insanları *Spirulina*'nın besleyici değerinin yanında olası terapötik etkilerini de araştırmaktadırlar. Birçok klinik araştırma, kolesterol ve kanserin azaltılması ile bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, bağırsaktaki yararlı bakterilerin artırılması, ağır metallerin ve ilaçların nefrotoksitesinin azaltılması ve radyasyondan korunmaya kadar değişen çeşitli terapötik etkilere işaret etmektedir (Belay ve diğerleri, 1993). Yine yapılan çalışmalarda *Spirulina* mikroalginin; akut, subkronik ve kronik toksisite, üreme, mutajenite ve teratojenite için hayvan deneylerinde vücut veya organ toksisitesine neden olmadığı kanıtlanmıştır (Chamorro ve diğerleri, 1996).

Spirulina biyokütlesinin, iz elementler içeren preparatların üretimi için uygun bir hammadde olduğunu göstermeyi amaçlayan bir çalışmada *Spirulina*, protein olarak oldukça zengin, uzun süredir yiyecek olarak kullanılmış, toksik olmayan, biyoteknolojik ve biyokimyasal olarak çok uygun dengeli bir nesne olarak betimlenmiştir. Hem ekim koşulları hem de besiyerinin bileşimi, biyokütlenin kullanım amacına bağlı olarak değişebilir. Belirli iz elementlerle zenginleştirilmiş biyokütle elde etmek için *Spirulina* hücrelerinin büyüme sürecinde metal biriktirme yetenekleri önem arz etmektedir. Hem kontrollü şartlar altında elde edilen *Spirulina* biyokütlesi hem de saflaştırılmış protein ekstraktları, eser elementli preparatların üretimi için iyi bir kaynaktır (Cepoi ve diğerleri, 2017).

Spirulina sp'den ekstrakte edilen fikosiyanın ekstrüzyon yöntemiyle aljinat/kitosan ile kaplandığı bir çalışmada ise kapsüllenmiş fikosiyanın sıcaklık ve pH değişikliklerinden etkilenmemiştir. Yapılan deneyler, aljinatın oranını değiştirerek gerçekleştirilmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi %2 aljinat, %2,5 CaCl₂ içeren ve 1:1 fikosiyanın:aljinat oranı ile elde edilmiştir. Boyutu ve homojenliği açısından her bir mikrokapsül SEM/XRD ile değerlendirilmiştir (Suzery ve diğerleri, 2015).

Dewi ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada, dondurarak kurutma yöntemi sonucu maltodekstrin (M), κ -Karajenan (C) ve Na-aljinat (A) gibi farklı kaplama malzemeleri ile elde ettikleri *Spirulina* sp. fikosiyanın mikrokapsüllerinin (F) fiziksel özelliklerini araştırmışlardır. Mikrokapsüller, üç çeşit kaplama malzemesinin sırasıyla, ağırlıkça %10 (FM), %9:1 (FMA) ve %9:1 (FMC) oranları ile oluşturulmuştur. Sonuç olarak, %1 Na-

aljinat içeren FMA'da, en yüksek kütle yoğunluğu (%0,334 g/mL) ve toplam çözünür katı (%9,067) görülmüştür. Kromameter ile yapılan renk analizi, FMC'nin diğer numunelere kıyasla en mavi rengi ürettiğini göstermiştir. Camsı geçiş sıcaklığı (Tg), tüm numunelerde diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile incelenmiştir.

2. 4. Antioksidan Maddeler

Vücudumuzdaki kimyasal reaksiyonlarla veya dış etkenlerle oluşan, hücrelerin yapısını kötü yönde etkileyen serbest radikallerin işlevini sona erdiren, dolayısıyla kanser gibi ölümcül hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığa sebebiyet verebilecek zincir reaksiyonlarını da önleyen moleküller antioksidanlar olarak bilinmektedir. Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu'na göre ise gıdada yağın acılaşması ve renk değişimleri gibi oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan bozulmaları önleyerek raf ömrünü uzatan maddelerdir.

Antioksidanlar doğal ve yapay olmak üzere kaynaklarına göre iki gruba ayrılırlar. Doğal antioksidanlar olarak tokoferoller, askorbik asit ve türevleri, NDGA (Nordihidroguairatik asit), aminoasitler, peptidler, proteinler, vitaminler (A, C, E), fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler vb.) ve karotenoidler örnek verilirken yapay antioksidanların en bilinenleri ise BHA (Butillenmiş hidroksi anisol), BHT (Butillenmiş hidroksi toluen) ve PG (Propil gallat)'tır.

İnsan sağlığı için antioksidanların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleri çok önemli etkenlerdir (Kaur ve Kapoor, 2001). Antioksidanlar bitkilerde, mantarlarda ve alglerde fazlasıyla bulunan doğal katkı maddeleridir ve sentetik olanlara tercihen bir alternatiftir (Caleja ve diğerleri, 2016). Hem vücut hücreleri ile üretilirler, hem de gıdalar yoluyla alınabilirler.

Tıpkı antioksidan maddeler gibi fenolik bileşiklerin de önemli bir bölümü antioksidatif etki gösterirler. "Polifenoller" olarak da adlandırılan fenolik bileşikler yapılarında benzen halkasına bir ya da daha fazla hidroksil grubu bulundururlar. Flavonoidler ve fenolik asitler diye ikiye ayrılırlar. Fenolik bileşiklerin doğal antioksidan aktiviteleri

serbest radikallerin sebep olduğu reaksiyonlarda etkili olup çeşitli kanser türleri, kalp hastalığı ve akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıkların oluşumuna engel olurlar (Nizamlioğlu ve Nas, 2010). Antioksidan özelliklerine ek olarak, fenolik bileşikler anti-mikrobiyal, anti-enflamatuar, antialerjenik, anti-aterojenik, anti-trombotik etkiler gibi geniş bir yelpazede fizyolojik özellikler gösterirler (Cilek ve diğeri, 2012).

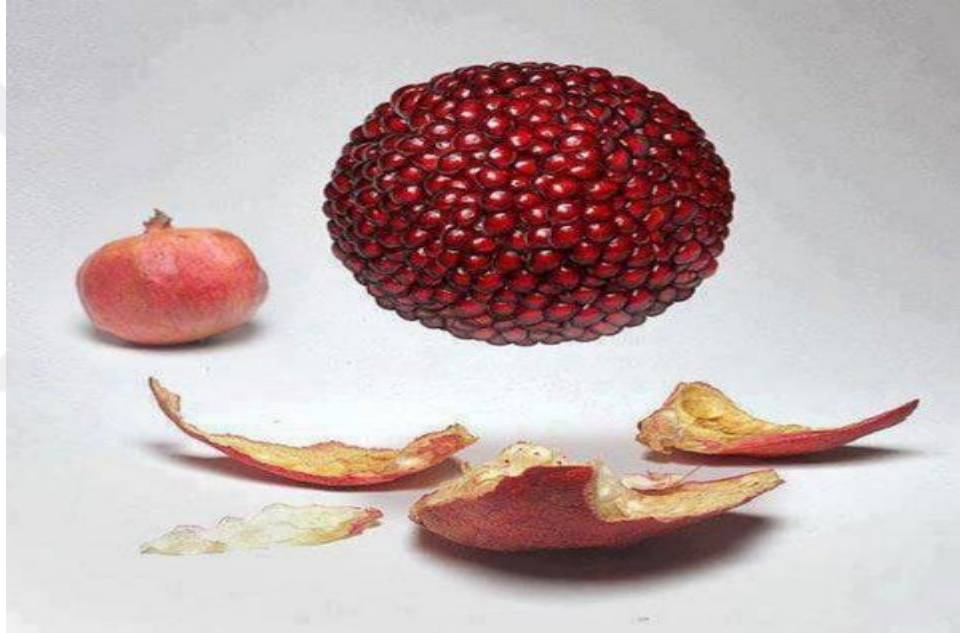
Bir antioksidan türü olan rosmarinik ve karnosik asitlerin yeşil teknikler arasında önde gelen ultrason destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyonla biberiye yapraklarından seçici olarak geri kazanımını konu alan bir çalışmada, daha geleneksel katı sıvı ekstraksiyon işlemlerine oranla fenol verimi üç kattan fazla artmıştır. Seçicilik açısından, oldukça yüksek rosmarinik asit içeriği (kurutulmuş ekstraktın %6,8'i), ultrason altında etil alkolde elde edilmiştir. Kurutulmuş ekstraktın %13'üne kadar en yüksek karnosik asit içeriği ultrason destekli ekstraksiyon ile n-heksanda elde edilmiştir. Sonuçta, geleneksel olmayan enerji kaynakları ve özellikle yüksek yoğunluklu ultrason, biberiye yaprağı ekstraksiyonu için hızlı, verimli ve seçici tekniklerdir ve yüksek rosmarinik ve karnosik asit içerikli fraksiyonlar elde etmeye yardımcı olmuştur (Bellumori ve diğeri, 2016).

2. 5. Nar (*Punica granatum* L.)

Dünyada kültüre alınan ilk bitkiler arasında gösterilen bir meyve olan nar (*Punica granatum* Linn.); insan sağlığına olan yararları ve ticari yaşamdaki değerinin yanı sıra kültür hayatında da sıkça bahsi geçen bir meyvedir (Şekil 2.4). Türkiye ise dünyanın önde gelen nar üreticisi olan ülkelerinden biridir. Fitokimyasallarca zengin olup antosiyaninler, ellagitaneenler gibi antioksidan ve antitümör aktiviteleri ispatlanmış fenolik maddeleri de içeren nar, son yıllarda en çok araştırılan meyvelerden biri haline gelmiştir.

Punikalagin ve punikalin gibi nispeten yüksek bir antioksidan içeriğine sahip fenolik bileşiklerden bazıları sadece bu meyvede bulunur. Fenolikler bitki dokularında eşit olarak dağılmamıştır. Çözünür fenolikler hücrelerde vakuollarda bulunurken; çözünmez fenolikler çoğunlukla mekaniksel güç sağlamak; doku bütünlüğü ve bitki gelişimini

düzenleyip korumak için hücre duvarlarında bulunurlar (Naczki ve Shahidi, 2004). Narlarda bu çeşitlenme sadece kalitatif değil, aynı zamanda kantitatifdir. Narın antimikrobiyal aktiviteleri *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Yersinia enterocolitica*'a karşı kanıtlanmıştır (Al-Zoreky, 2009). Nar suyunun antioksidan, antihipertansif ve anti-kanser etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (Aviram ve Dornfeld, 2001; Çam ve diğerleri, 2009; Malik ve diğerleri, 2005). Nar suyu üretiminden sonra bütün meyvenin %40'ına kadar olan nar kabuğu kısmı bir yan ürün olarak kalır. Li ve diğerleri (2006); nar kabuğu ekstraktının posa ekstraktından 10 kat daha fazla fenolik içeriğinin olduğunu öne sürmüştür.



Şekil 2.4. Nar <https://www.birgun.net/amp/haber/nar-nasil-kolay-ayiklanir-186480>: Erişim tarihi: 01.06.2019

Nar kabuğu ekstraktının aynı zamanda antibakteriyel, antiinflamatuvar ve anti-alerjik aktiviteleri çalışılmıştır (Panichayupakaranant ve diğerleri, 2010). Nar kabuklarının hidroalkollü ekstraktları normal ve diyabetik farelerin kan glikoz seviyesini önemli ölçüde azaltarak anti-diyabetik aktiviteler göstermiştir (Jafri ve diğerleri, 2000). Bu sonuçlar nar kabuğunun fenoliklerinin çok amaçlı biyoaktif madde şeklinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Nar kabuklarından elde edilen doğal polifenoller dış ortamdan korunmalıdır çünkü ısıya nispeten daha az olmak üzere oksijen, ışık, asit ve alkaliye karşı fazlasıyla duyarlıdır. Bu nedenle, fenolik bileşiklerin uygulamasında polifenolün yapısal bütünlüğünü korumak, tadını maskelemek, suda çözünürlüğünü artırmak ve biyoyararlılığı için işlenmiş koruyucu ürünlerin tüketim boyunca formülasyonu gerekmektedir.

Bu konuda yapılan bir çalışmada nar kabuğu polifenollerinin emülsiyon yöntemiyle β -siklodekstrin/2-hidroksipropil β -siklodekstrin ile kaplanmıştır. %20 oranında polifenol katı faz ekstraksiyonu kullanılarak izole edilmiştir. Siklodekstrinlerin varlığı nar ekstraktların toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesini artırmıştır (Rodsamran ve Sothornvit, 2018).

Yine benzer bir çalışmada nar kabukları polifenollerini içeren ekstraktı, kalsiyum aljinat tanecikleri ile iyonik jelleşme yöntemi ile kapsüllenmiştir. Ekstraktın enkapsülasyon verimi üzerindeki çeşitli oluşum faktörlerinin etkileri (sodyum aljinat konsantrasyonu, kalsiyum klorür konsantrasyonu, kalsiyum klorüre maruz kalma süresi, jelleşme banyosu süresinin muhafaza edilmesi ve ekstrakt konsantrasyonu) incelenmiştir. En iyi sonuç %3 sodyum aljinatla kaplanmış 100 mL damıtılmış su içinde 1 g nar kabukları ekstraktı içeren ve 20 dk boyunca 0,05 M kalsiyum klorür içinde karışmış ve 15 dk boyunca bir jelleştirme banyosunda tutulmuş olan deneyle elde edilmiştir. Bu optimize edilmiş koşullarla toplam ekstrakt polifenollerinin %43,90'ı ve toplam ekstrakt proantosiyanidinlerinin %46,34'ü kapsüllenmiştir. Kalsiyum aljinat taneciklerinde nar kabuğu ekstraktının mikrokapsüllenmesi, doğal antioksidanlarla ilaç ve gıda takviyesi için umut verici bir tekniktir (Zam ve diğerleri, 2014).

Nar suyu ve etil alkollü ekstraktlarının biyoaktif bileşenlerinin sprey kurutucu yöntemiyle maltodekstrin ya da soya proteini izolatları ile kaplandığı çalışmada ise full faktöriyel tasarımı modelinde kaplama materyalinin oranı ve sıcaklık bağımsız değişken olarak kullanılmıştır. Optimal koşullar altında elde edilen biyoaktif bileşiklerin mikrokapsül tozlarının kararlılığı, 60°C'de etüvde 56 gün boyunca çalışılmıştır. Elde edilen sonuca göre polifenollerin kapsülleme verimliliği soya proteini matriksinde maltodekstrin matriksine oranla önemli ölçüde daha yüksek olmuştur. Ancak depolama

süresi boyunca daha düşük bozunma oranı sabitine sahip maltodekstrin matrisi antosiyaninler için daha iyi bir koruma etkisi göstermiştir. Mikrokapsüller yoğurtlara ilave edildiğinde kapsüllenen biyoaktif bileşiklerin kararlılığı (nar kabuğu etil alkolü ekstraktların maltodekstrin kapsülleri hariç), kapsülleme olmayanlara benzer bir davranış sergilemiştir (Robert ve diğerleri, 2010).

Konjuge linolenik asit yönünden zengin nar çekirdeği yağının mikrokapsüllendiği bir çalışmada ise kapsülleyici madde olarak, sodyum aljinat veya trehaloz; emülsiyonlaştırıcı olarak da kalsiyum kazeinat kullanılmıştır. İç çekirdek malzemesi olan nar çekirdeği yağı ile suyu içeren bir yağ emülsiyonu hazırlanmıştır. Böylece emülsiyon dondurularak kurutulup, kurutulmuş ürün toz haline getirilmiştir. İki kapsülleyicinin performansı, çekirdek malzemenin mikrokapsüllerden salınım hızı ve mikrokapsüllerin sert koşullara karşı kararlılığı açısından karşılaştırılmıştır. Mikrokapsüllerin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskopu altında incelendiğinde her iki tür mikrokapsülün de düzensiz yüzey morfolojisine sahip olduğu görülmüştür. Mikrokapsüllerin salınım hızları ise UV-spektrofotometre ile çalışılmış ve trehaloz bazlı mikrokapsüller daha yüksek salınım hızı göstermiştir. Mikrokapsüllerin belirli bir zaman periyodu boyunca 110°C'ye maruz bırakılması üzerine, sodyum aljinat mikrokapsüllerinin orijinal özelliklerini korudukları gözlenmiş, dolayısıyla, sodyum aljinat mikrokapsüllerinin trehaloz mikrokapsüllere göre ısıya daha fazla dayanıklı oldukları sonucuna varılmıştır (Gupta ve diğerleri, 2012).

Mikrokapsülleme koşullarının nar kabuğu fenoliklerinin ürün kalitesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada da optimal sonuçlar 160°C hava giriş sıcaklığı ve ağırlıkça 1/1 ya da 1/3 fenolik/maltodekstrin oranı ile elde edilmiştir. +4°C'de 90 günlük depolamada fenolik içerik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p>0.05$) olmamıştır. Aynı zamanda kaplamada kullanılan maltodekstrin üzerinden bir fark gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada ayrıca gıda modeli olarak kullanılan dondurmanın fonksiyonel özelliklerinin zenginleştirilmesi için elde edilen mikrokapsülenmiş fenolikleri ağırlıkça %0,5 ve %1 oranlarında kullanılmıştır. Antioksidan etki ve alfa-glukozidaz inhibe edici etki kontrol örneği ile karşılaştırılarak araştırılmıştır (Çam ve diğerleri, 2014).

2. 6. Enkapsülasyon

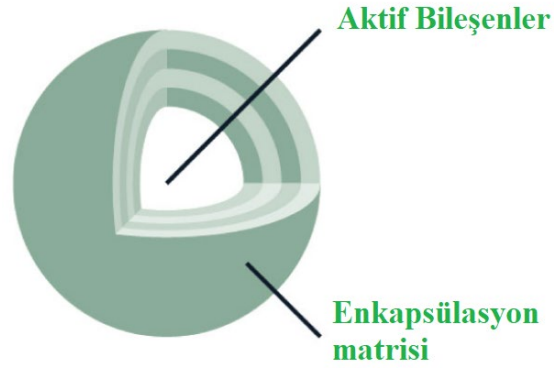
Fonksiyonel gıda üretiminde, farmasötik, nutrasötik ve kozmetik endüstrisinde çokça kullanılan fenol bakımından zengin ürünlerin üretimi için doğal ürünlerden fenolik bileşiklerin eldesinde ekstraksiyon basamağı çok önemlidir (Cilek ve diğerleri, 2012).

Maserasyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonlar farklı ekstraksiyon tiplerinin bazı örnekleridir. Etil alkol, metil alkol, aseton, su veya bunların karışımları çözücü olarak kullanılabilir. Ancak gıdalar işlendiğinde özel dikkat gerekir. Kullanılan çözücüler; sağlık ve güvenlik konularıyla ilgili herhangi bir toksisiteye sahip olmamalı veya kullanımdan sonra herhangi bir artık bırakmamalıdır (Adil ve diğerleri, 2008).

Ayrıca taze fenolik bileşik ekstraktları, uzun süre çözücü ortamında kalınca yapıları bozulmakta ve düşük kararlılığa sahip oldukları için muhafaza süresi çok kısa tutulmaktadır. Bu nedenle fenolik bileşiklerin muhafaza sürelerini artırmak, oksijen, ısı ve ışık gibi dış etmenlere karşı daha dayanıklı hale getirmek için enkapsülasyon tekniği son yıllarda önem kazanmıştır. Böylece fenolik bileşikler çözücü ortamından alınıp katı formda daha kararlı ve daha uzun sürelerde saklanabilmektedir.

Enkapsülasyon işlemi 60 yılı aşkın bir süredir farmakoloji, kimya, kozmetik, gıda, boya tarım, ilaç, enerji ve savunma gibi alanlarda kullanılmaktadır (Ünal ve Erginkaya, 2010). Gıda sektöründe genellikle, sıvı damlacıkların, katı taneciklerin veya gaz bileşenlerinin gıda saflığında kaplama materyalleri ile kaplanması için ürünlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek, raf ömürlerini ve biyoyararlılıklarını artırmak amacıyla kullanılmaktadır.

Enkapsülasyon; sıvı veya gaz formundaki biyoaktif gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücre ve diğer maddelerin, protein veya karbohidrat esaslı kaplama materyali olan ince bir film tabakası ya da polimer kapsüller ile kaplanarak kaplanan hassas materyalin kullanıma kadar korunması işlemidir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Enkapsülasyonda aktif bileşenler (öz) ve enkapsülasyon matrisi (kabuk)
<https://balchem.com/human-nutrition-health/technologies/microencapsulation/>: Erişim tarihi: 01.06.2019

Sonuç olarak mikrokapsül içeriği; hava, nem, ışık gibi çevresel koşullardan korunmuş olur (Jackson ve Lee, 1991). Gıda ürünleri içerisinde çoğunlukla aroma bileşenleri, katı ve sıvı yağlar, enzimler, vitaminler, mineraller ve renk bileşenleri enkapsüle edilmektedir (Koç ve diğerleri, 2010). Son zamanlarda popüler olan antioksidanlar üzerinden de enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmektedir.

Günümüzde bilinen en yaygın kullanılan enkapsülasyon teknikleri aşağıdaki gibidir.

Çizelge 2.1. Enkapsülasyon teknikleri

Adı	Çalışma Prensibi
Emülsiyon hazırlama	Genellikle sulu çözeltilerdeki biyoaktif bileşenlerin kapsüllenmesi için kullanılır.
Ultra-sonikasyon	Temel olayı akustik kabarcıklar olan bu teknikte basınç farkından oluşan türbülans ile küçük parçacıklar elde edilmektedir (Li ve Fogler, 1978).
Mikro-akışkanlaştırıcı	İki kısma ayrılan bir basınç akımı prensibi ile çalışmaktadır. Akışın her kısmı bir delikten geçer ve sıvı, etkileşim haznesi olan mikro-akışkanlaştırıcının etkileşim haznesine taşınır (Mahdi Jafari ve diğerleri, 2006).
Dondurarak kurutma	Isıya duyarlı maddelerin termal bozunma reaksiyonlarını en aza indirmek için kullanılan bu teknik maliyetlidir. Uygulaması, antioksidanlar gibi çok yüksek değerli içeriklerle sınırlıdır (Augustin ve Hemar, 2009).
Püskürtmeli kurutma	Bir polimer çözeltisi içine yayılan çekirdek partiküllerinin sıcak bölmeye püskürtülmesi şeklindeki bu işlem düşük maliyetlidir.

Enkapsülasyonun temel nedenleri şöyle özetlenebilir:

1. Uyumsuz bileşikleri ayırmak
2. Sıvıların katı hale getirilmesi
3. Kararlılığı artırma (çevreden gelen oksidasyon ve deaktivasyona karşı enkapsüle materyali korumak)
4. Enkapsüle edilen materyalin tadını, kokusunu ve aktivitesini maskelemek
5. Mevcut çevrenin korunması
6. Aktif bileşiklerin, kontrollü olarak açığa çıkarılması (Ünal ve Erginkaya, 2010).

Bir bileşenin bulunduğu ortam ile ilişkisinin sınırlandırılması gerektiğinde, bu madde enkapsüle edilerek ortamdaki ayrılabilir. Kaplanan madde; içeriklerini koruma, istenildiğinde farklı sürelerde ve ortamlarda serbest hale geçirilip gerekli koşulların sağlandığı ortamlarda çalışabilme özelliklerine sahiptir. Burada kaplamada kullanılan materyalin özellikleri de etkilidir (Kınık ve diğerleri, 2003).

Genel olarak enkapsülasyon tekniğinde kararlılığı yüksek, uygun geçirgenlikli, istenen düzeyde boyutları olan ve ortamla uyumluluğu yüksek kapsüller istenir. Bu özellikler için çok farklı kaplama materyalleri kullanılmaktadır (Aloğlu ve Öner, 2010).

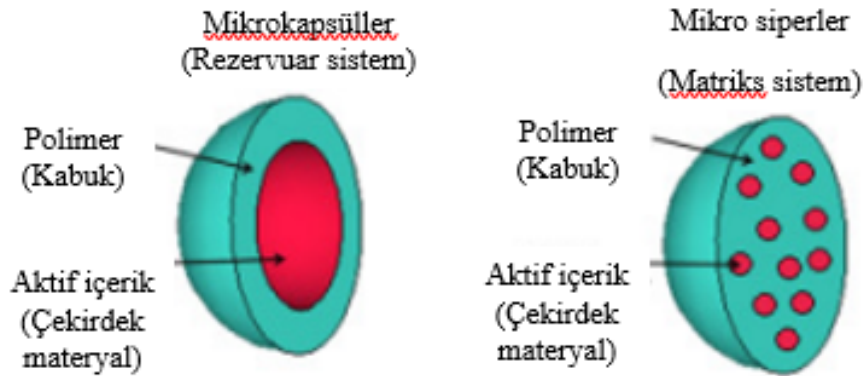
İdeal bir kaplama materyali;

1. Toksik olmamalı
2. Kolay uygulanabilmeli
3. Tam koruma sağlamalı
4. Enkapsüle edilen materyal ile reaksiyona girmemeli
5. Ekonomik olmalıdır.

Sıralanan bu özelliklerin tümünü taşıyan bir kaplama materyali bulunmamaktadır. Bu nedenle, pratikte diğer kaplama materyalleri, oksijen tüketiciler, antioksidanlar, şelat ajanları ve biyosüpfaktanlar gibi tamamlayıcılar da kullanılmaktadır (Ünal ve Erginkaya, 2010).

Mikroenkapsülasyon için farklı türlerde kapsülleme malzemeleri kullanılmaktadır (Jackson ve Lee, 1991). Karbohidratlar (sakkaroz, nişasta, maltodekstrin, dekstran, mısır şurupları), lipidler (monogliseritler, digliseritler, stearik asit, tristearin, parafin, balmumu, iç yağlar, vaks ve sertleştirilmiş yağlar), proteinler (kazein, jelatin, süt serumu, albümin, gluten), zamklar (sodyum aljinat, arap zımkı, agar, karragenan), selülozlar (metil selüloz, etil selüloz, karboksimetil selüloz, asetil selüloz, nitro selüloz, selüloz asetat ftalat, selüloz asetat butil ftalat), inorganik materyaller (kalsiyum sülfat, killer, silikatlar) örnek olarak verilebilir. Ayrıca polisakkarit, protein ve mineraller açısından önemli bir gıda kaynağı olan algler de kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır.

Kapsüllemede yaygın olarak 2 tip görülmektedir. Birincisi, bir kabuk ile sınırlanmış tek bir çekirdeğe sahip olan mononükleer kapsüller şeklinde, ikincisi ise bir matris içine gömülü çekirdek materyalin olduğu küme şeklindedir (Şekil 2.6) (Schrooyen ve diğerleri, 2001). Uygulanan proses teknolojileri ve kaplama malzemeleri (çekirdek materyalin yanı sıra) kapsüllerin spesifik şeklini belirlemede etkilidir.



Şekil 2.6. Kapsülleme tipleri (Mahavidyalaya, 2019)

Haematococcus pluvialis, karoten yapısında doğal antioksidan olan astaksantince dünyanın en zengin mikroalgidir. Kittikaiwan ve diğerleri (2007) yaptıkları bir çalışmada, *Haematococcus pluvialis*'in homojen kitosan hücrelerine enkapsülasyonu sonucu kitosan-alg kapsülleri elde edilmiştir. Yosun tanelerinin kitosan çözeltisine

tekrar tekrar daldırılmasıyla hazırlanan taneciklerinin boyut ve şekli düzgün olmuştur. Çoğu karotenoidler gibi astaksantin de doymamış bir moleküldür. Yüksek sıcaklık, ışık ve yükseltgen koşullarda cis formundan düşük aktiviteli trans formuna dönüşebilir. Sonuç olarak, enkapsüle edilmiş astaksantin biyolojik aktivitesi bu teknikle bu etkilerden korunmuş olur. Çalışmada aynı zamanda alg hücreleri içine enkapsüle edilmiş astaksantin antioksidan aktivitesi de incelenmiştir. Kapsülleme işleminden sonra *H. pluvialis*'teki astaksantin içeriğinde önemli bir azalma olmamıştır.

Başka bir çalışmada ise antioksidan, antibakteriyel, anti-kanser vb. farmakolojik etkilere sahip, bir polifenol türü olan kurkumin (Cur) *Chlorella vulgaris* alg hücresine enkapsülasyonu yapılmıştır. Daha sonra enkapsüle kurkuminin, floresans mikroskop, termogravimetri, diferansiyel taramalı kalorimetri ve Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi teknikleri ile analizi yapılmıştır. Sonuçlar kurkuminin alg hücre duvarı boşluklarına yerleştiği konusunda fikir vermiştir. Termal kararlılığı da ispatlanmıştır. Serbest haldeki formlarına göre alg ve Cur enkapsüllerinin termal kararlılığı, 0–300°C'de %3,8, 300–600°C'de %33 daha yüksek bulunmuştur. Kapsüllemeyen sonra, Cur'in fotokararlılığı yaklaşık 2,5 kat artmıştır. Alg içindeki Cur'in adsorpsiyon izotermi, Freundlich izoterm modeline uygun bulunmuştur. Mikrokapsüller diğer çalışılmış biyotaşıyıcılardan (lipozom vb.) daha yüksek değerlerde ağırlıkça yaklaşık %55'e kadar Cur ile yüklenmiştir. Sonuç olarak, *Chlorella vulgaris* hücresinin Cur için yeni bir sabit taşıyıcı olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır (Jafari ve diğerleri, 2016).

Başka bir çalışmada ise, likopen yüklü *Chlorella pyrenoidosa* hücreleri (CPC'ler) elde edilmiştir. Elde edilen kompleksin kapsülleme verimliliği (%EY) $13,06 \pm 0,89$; kapsülleme etkinliği (%EE) $96,31 \pm 3,10$ 'dur. Floresan analizleri kapsüllemeyi doğrulamıştır. Ayrıca X-ışını kırınımı, termogravimetrik analiz ve diferansiyel taramalı kalorimetri analizleri de yapılmış ve yüklü kapsüller ile yüklenmemiş CPC'ler, likopen ve bunların fiziksel karışımları karşılaştırılmıştır. Sonuçta veriler, likopenin komplekste kristallenmeden amorf halde bulunduğunu göstermiştir. Bozunma kinetikleri incelendiğinde; kapsülleme, likopen kararlılığını artırmıştır. Likopen yüklü CPC'ler 25°C'de 25 gün muhafaza edildikten sonra DPPH serbest radikallerine karşı antioksidan aktiviteleri araştırılmış, serbest haline göre antioksidan etkileri daha yüksek olmuştur.

Bu çalışma ile, CPC'lerde likopenin kapsüllenmesinin fizibilitesi incelenmiş ve oksidatif stresi azaltan yeni nutrasötiklerin üretiminde kullanılabilecek her iki malzemenin aktiviteleri birleştirilmiştir (Pu ve Tang, 2017).

2. 7. Enkapsülasyon Yönteminin Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Caleja ve diğerleri (2016) yoğurtlarda doğal ve sentetik farklı antioksidan koruyucu maddelerin bulunması ile ilgili kıyaslamalı bir çalışma yapmışlardır. *Matricaria recutita* L. (chamomile) ve *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) doğal katkı maddesi olarak kullanılmıştır. pH ve besin değerleri açısından çok büyük bir fark görülmemiştir. Ancak, doğal katkı maddesinin kullanıldığı yoğurtlarda antioksidan etki daha yüksek bulunmuştur.

Emülsiyon yöntemiyle Thai pirinç otu özünün maltodekstrin ile kaplandığı bir çalışmada mikrokapsüllenmiş toz (MP) enkapsüller, 1:4 ve 1:9 maltodekstrin oranları ile elde edilmiştir. MP1:4 enkapsüllere göre MP 1:9 enkapsüller, daha düşük toplam fenolik içerik (TPC) gösterirken antioksidan kapasiteleri daha yüksek olmuştur. Karboksimetil selüloz karıştırılmış filme eklenen MP 1:9'de, su bariyeri ve TPC artmıştır. Sonuç olarak kuru ve yağlı gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmaya yardımcı biyoaktif ve biyobozunur ambalaj malzemesi olarak bu filmin kullanılabileceği düşünülmüştür (Rodsamran ve Sothornvit, 2018).

Vişne posasının emülsiyon yöntemiyle maltodekstrin ve arap zıkkı ile kaplandığı bir çalışmada ise kaplama malzemesinde arap zıkkı oranı arttığında kapsülleme verimliliği artmıştır. En iyi kapsüller 20 dk sonikasyon ve 1:20'lik çekirdek-kaplama oranı ile hazırlanmıştır (Cilek ve diğerleri, 2012).

Başka bir çalışmada ise propolis özü sprey kurutucu yöntemiyle jelatin/mannitol ile kaplanmış ve elde edilen spreyle kurutulmuş partiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri, *Staphylococcus aureus*'a karşı muhafaza edilmiştir (Bruschi ve diğerleri, 2003).

Serrano-Cruz ve diğerkleri (2013) de *Roselle* özünü faz ayrımı yöntemiyle karboksimetil selüloz (CMC), peynir altı suyu proteinleri ve pektin karışımı ile kaplamışlardır. Peynir altı suyu proteinleri fenolik bileşiklerin salınımını desteklerken, diğerk taraftan CMC salınımlarını inhibe etmiştir. Liu ve diğerkleri (2015) ise *Phyllanthus urinaria* özünü koaservasyon yöntemiyle glisinin ile kaplamıştır. Fenolik bileşiklerin salınımında pH etkili olmuştur. Nanopartiküller ortama pH 7,4'te daha hızlı ve pH 1,2'de daha yavaş serbest bırakılmıştır.

Kuersetin ve ferulik asidin elektroçekim yöntemiyle *Amaranth* protein izolatu ve ultra ince pullulan ile kaplandığı diğerk bir çalışmadaysa enkapsüle antioksidanların serbest antioksidanlara göre antioksidan kapasiteleri *in vitro* olarak daha yüksek bulunmuştur (Aceituno-Medina ve diğerkleri, 2015). Sığır serum albümininin, lizozim veya miyogloblin ile kaplandığı çalışmada ise kuersetinin simüle edilmiş intestinal sıvı içinde kararlılığı korunmuştur (Fang ve diğerkleri, 2011). Yine kuersetin başka bir çalışmada Ha ve diğerkleri (2013) tarafından jelleşme yöntemiyle β -laktoglobulin ile birleştirilmiş linoleik asitle kitosan oligosakkarit ile kaplanmıştır. Hem yüklü linoleik asit miktarı hem de alt ortam sıcaklığı arttığında nanopartiküllerin boyutu artmıştır. Kuersetinin sıvı-sıvı dağılımı yöntemiyle zein/kazeinat ile kaplandığı çalışmada ise, zein oranlarına bağlı olarak iğne benzeri veya küresel parçacıklar elde edilmiştir. Enkapsüle kuersetin, bazik pH'ya ve ultraviyole ışığına karşı kimyasal olarak kararlı kalmıştır (Patel ve diğerkleri, 2012).

Yapılan başka bir çalışmada da polifenolik bileşiklerce zengin konsantre *Roselle kaliks* bitkisi (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktı içeren jelatin taneleri katman üstüne katman yöntemiyle aljinatla kaplanmış ve CaCl₂ kullanılarak iyonotropik olarak jelleştirilmiştir. Bu teknikle elde edilen tek kaplamalı ve çift kaplamalı boncuklarda yüklü ekstraktın salınım modeli değerlendirilmiştir. Buna göre, *H. sabdariffa*'nın polifenollerin salınımı, aljinat tabakalarının sayısı ve kalsiyum klorür çözeltisine daldırma süresinin artırılmasıyla kontrol edilebilmiştir (Díaz-Bandera ve diğerkleri, 2013).

Diğer bir çalışmada da jelleşme yöntemi kullanılarak siyanidin-3-O-glukozit (C3G) soya ferritin ile kaplanmış ve kapsülleme, termal kararlılığı artırmış ve C3G'nin taşınmasını kolaylaştırmıştır (Zhang ve diğerleri, 2014).

Yaban mersini ekstraktı ile yapılan çalışmada da yöntem olarak ekstrüksiyon ve kaplama materyali olarak aljinat/poli-L-lizin kullanılmıştır. Bu partiküllerin sulu çekirdeklerinde antioksidan özellikteki antosiyaninler vardır ve gıdalarda sağlık açısından yarar sağlayan katkı maddesi olarak kullanılabilirler. Farklı türlerde sıvı dolgulu kalsiyum aljinat/poli-L-lizin kapsüllerinin mekanik kararlılığı ve salınım kinetiği çalışılmıştır. Yapılan deneylerde kapsüllerin deformasyonu, poli-L-lizin konsantrasyonu ve adsorpsiyon süresinin bir fonksiyonu olarak ölçülmüştür. Aynı zamanda sıvı dolu aljinat kapsüllerinin mekanik özelliklerinin, poli-L-lizin ilavesiyle seçici olarak değiştirilebileceği ve ayarlanabileceği belirlenmiştir. Antosiyaninlerin salınımı pH 1,0 ve 4,5'te yüksek olmuş, ancak kapsüllerde yüksek miktarda antosiyanin alıkonulmuş, yani ilaç salınım özellikleri, çok bileşenli kapsüllerin farklı bileşimleri için önemli ölçüde değişmemiştir (Leick ve diğerleri, 2011).

Yaban mersini antosiyanininin emülsiyon yöntemiyle peynir altı suyu proteini (ısı jelasyonu) ile kaplandığı çalışmada bir emülgatör yardımıyla ortalama çap azaltılmış; ancak emülgatörün eklenmesi kapsülleme verimliliğini azaltmıştır (Betz ve Kulozik, 2012). Isı muamelesi ise, kapsüllenmiş mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesini önemli ölçüde azaltmıştır (Betz ve diğerleri, 2012). Mikrokapsüller, simüle edilmiş intestinal sıvılardaki (pH 6,8) antosiyanin salınımını geciktirmiştir (Schantz ve diğerleri, 2014). Kapsüllenmiş yaban mersini özleri, HT29 kolon karsinom hücrelerinin büyümesini inhibe etmiştir (Kropat ve diğerleri, 2013).

2.8. Yoğurt

Yoğurt; *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterileri aracılığıyla laktik asit fermentasyonu ile elde edilen fermente süt ürünüdür. Ortaya çıkan laktik asit ile ürüne karakteristik yapısını ve duyuşal özelliklerini veren süt proteini etkileşime girer. İnsanların beslenme düzeninde önemli bir yere sahip olan,

çoğu ülkede kitlesel olarak üretilen ve tüketilen yoğurtlara büyük ölçüde değer verilmektedir (O'Connell ve Fox, 2001; Serafeimidou ve diğerleri, 2013; Shori ve Baba, 2014). Yoğurt denildiğinde akla gelen, içerdiği insan sağlığına faydalı zengin besin maddeleridir. Yapılan araştırmalara göre özellikle kas ve kemiklerde etkili, kan şekerini dengeleyici, yüksek tansiyonu önleyici, tok hissettirdiği için kilo vermeye yardımcı ve bunun gibi daha birçok faydası bulunan geleneksel bir besindir.

Süt ürünleri ile ilgili yapılan çalışmalar, bu ürünlere sınırlı kapsamda biyoaktif maddeler eklenebileceğine işaret etmektedir. Bu yüzden, bu sınır aralıklarında çalışan bazı bilim adamları bitki ya da meyve merkezli katkı maddeleri ile yoğurdu karıştırmışlardır. Doğal katkı maddesinin kullanıldığı yoğurtlarda daha yüksek antioksidan etki gözlemlenmiştir (Caleja ve diğerleri, 2016).

Literatürde kapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin yoğurt gibi fermente süt ürünlerinde kullanılmasının bu bakterilerin canlılığını sürdürmesi için iyi bir yöntem olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Kailasapathy, 2002). Kapsülleme yolu ile koruma altına alınan bakterilerin yoğurtta canlılıklarını koruma oranı %80-95 arasında değişmiştir. Kapsülleme işlemi sırasında bakteri hücreleri fazla zarar görmemekte ve enzimatik faaliyetleri engellenmemektedir.

Yapılan bir çalışmada probiyotik bakterilerin enkapsüle edilmesi ile bu bakterilerin yüksek asitliğe karşı dayanımı artırılarak ürünün raf ömrü boyunca hücrelerin canlılığı muhafaza edilebilmiştir. Probiyotik hücreler canlılıklarının geliştirilmesi için prebiyotik maddelerle (örn. dirençli nişasta) kapsüle edilmiştir. Araştırma sonucunda mısır nişastasası kullanımının kaplamada bakterilerin canlılığını nişasta kullanılmadan kaplananlara kıyasla artırdığını tespit etmişler ancak; kaplama işleminin yüksek asit ve safra tuzu ortamında bakterilerin canlılıklarının artmasında önemli bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Araştırmada ayrıca kaplanmış bakterilerin canlılıkları 8 haftalık depolama sonunda 0,5 log birimi azalmışken, serbest hücrelerin sayısı 1 log birimi azalmıştır (Capela ve diğerleri, 2006; Sultana ve diğerleri, 2000).

Martins ve diğerkleri (2014) de çalışmasında *R. ulmifolius* iek tomurcuklarının sulu ve hidroalkolik ekstraktları elde etmişler, içeriğindeki fenolik bileşikleri (24 tane) kimyasal ve biyolojik olarak karakterize etmişlerdir. En çok bulunanları ellagitanin türevleri, H-10 izomeri ve lambertianin olmuştur. Daha yüksek fenolik ieriğre ve antioksidan aktiviteye sahip hidroalkolik ekstrakt, bir aljinat bazlı matrikste mikroenkapsüllenmiş ve antioksidan yararlarından dolayı bir yoğurt içine katılmıştır. Örnekler arasında mikrokapsüllü ekstraktı içeren yoğurt, kontrol grubu yoğurda göre (serbest ekstrakt içeren) daha yüksek bir antioksidan aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, *R. ulmifolius* hidroalkolik ekstraktı antioksidan aktivitesi ispatlanmış ve mikroenkapsülleme tekniğı ile korunmuştur.

Diğerk bir çalışmada, %1 kapsüllenmiş (En) ve %1 kapsüllenmemiş (NE) üzüm çekirdeğı ekstraktının (GSE) fermentasyondan önce süte eklenmesi ile yoğurtlar elde edilmiş ve elde edilen yoğurtların fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik içerikleri, antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Kapsüllenen GSE, kontrol grubuna göre duysal özellikler, asitlik, su tutma kapasitesi, viskozite açısından benzer sonuçlar vermiş; ancak 3 kat toplam fenolik miktar, 4 kat antioksidan aktivite artışı görölmüştür. Yine canlı kalmış *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin sayısında hiçbir etkisi olmamıştır. En-GSE yoğurdu ile karşılaştırıldığında, NE-GSE ürününün, 3 hafta depolama esnasında zayıf duysal özellikleri ve daha az polifenol kararlılığı olmuştur. Mikroenkapsüllenmiş GSE eklenerek yoğurdun fonksiyonel değerkinin artırılabilceğı düşünölmüştür. Antioksidan aktivitesini artırmak için yoğurtta mikroenkapsüllenmiş GSE, fonksiyonel bir katkı maddesi olarak kullanılabilir (Yadav ve diğerkleri, 2018).

Olası bir fonksiyonel bileşen olan fıstık filizi ekstraktı mikroenkapsüllerinin (PPSEM) elde edildiğı çalışmada da enkapsüller toz haline getirilmiş ve 16 gün boyunca +4°C’de saklanmışır. Yoğurdun içine katılarak fizikokimyasal ve duysal özellikleri açısından araştırılmışır. Polifenol olan resveratrolün yoğurtlardan salınma oranları, düşük konsantrasyonlarda (%0,25 ve %0,5 ağırlık/hacim) en aza indirilmiştir. Viskozite, daha yüksek PPSEM konsantrasyonlarında yavaş yavaş azalmıştır. Yoğurt üretmek için

düşük konsantrasyonlarda PPSEM kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Lee ve diğerleri, 2013).

Başka bir çalışmada ise, yoğurt içerisine vişne posası eklenmesiyle yoğurtta fizikokimyasal özellikler, duyuşal özellikler, fenolik içerik ve antioksidan aktivite incelenmiştir. Vişne posası %0, %8, %12 ve %16 oranlarında eklenmiş olup, ölçümler 14 günlük soğuk depolama boyunca kontrol edilmiştir. Yoğurttaki vişne posası konsantrasyonu artığında, pH ve peynir altı suyu ayrılması artarken; toplam katı, yağ, protein, kül, titre edilebilir asitlik ve viskozite değerleri gibi parametreler ise azalmıştır. Depolama sırasında, yoğurtlardaki toplam fenolik içerik mg örnek başına 20 µg gallik asit eşdeğerinden 81 µg'a ve antioksidan aktivite %48'den %86'ya kadar yükselmiştir (Şengül ve diğerleri, 2012).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Spirulina* mikroalgi

Çalışmada enkapsülasyon işleminde kaplama materyali olarak kullanılan saf bitki değeri 1:20 olan *Spirulina* (Mavi-Yeşil Algler) toz ekstresi, ticari olarak Nu-da Gıda Nebati Yağ ve Yem Sanayi Ticaret Anonim Şirketi'nden E611 kodu ile satın alınmıştır.

3.1.2. Nar meyvesi

Çalışmada enkapsülasyon işleminde kullanılan nar kabuğu ekstraktı eldesi için gereken nar meyveleri piyasadan ticari olarak satın alınmış, temizlenmiş ve daha sonra analiz için kullanılmıştır.

3.1.3. Çiğ süt

Çalışmada yoğurt üretiminde kullanılan çiğ süt Bursa'da faaliyet gösteren bir süt işletmesinden ticari olarak satın alınmıştır.

3.1.4. Süt tozu

Çalışmada çiğ sütün kuru maddesini artırmak amacıyla Pınar Süt A.Ş. tarafından üretilen yağsız süt tozu kullanılmıştır.

3.1.5. Starter kültür

Yoğurt üretiminde kullanılan pastörize sütlere katılan starter kültürler *S. thermophilus* + *L. bulgaricus* suşlarının karışımı olarak 713503 no'su ve FD-DVS YC-350/30x50U kodu ile Chr. Hansen's Laboratorium Denmark A/S'nin İstanbul'daki temsilcisi Peyma Sanayi A.Ş. tarafından sağlanmıştır. Dondurularak kurutulmuş laktik kültürün raf ömrü 24 ay, önerilen depolama sıcaklığı da $\leq -18^{\circ}\text{C}$ 'dir. Aseptik tekniğe uygun bir şekilde

rekonstitüe süt içerisinde çoğaltılıp aktif hale getirilmiş ve süte 42-45°C’de inokule edilmiştir.

3.1.6. Cihazlar

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda kullanılan cihazlar, özellikleri ve kullanım amaçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Cihazların özellikleri ve kullanım amaçları

Cihaz Adı	Özellikleri	Kullanım Amacı
UV-VIS Spektrofotometresi	Cary 50 Conc, Varian	<i>Spirulina</i> mikroalgi, nar kabuğu sulu/hidroalkolik ve yoğurt ekstraktlarının fenolik madde ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve enkapsülasyon çalışmalarında kullanılmıştır.
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-diod serili dedektör (HPLC-DAD)	1200 Series, Agilent Technologies	Ekstraktlardaki fenolik madde ve karotenoidlerin kantitatif tayininde kullanılmıştır.
Liyofilizatör	FreeZone 2,5 Plus, Labconco	Enkapsülasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
Çoklu manyetik karıştırıcı	MS-MP8, Wids	Analizlerde kullanılacak çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.
Isıticılı manyetik karıştırıcı	Are, Velp	Analizlerde kullanılacak çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.
Ultrasonik banyo	2,8 L, United	Rekonstitüe sütün hazırlanmasında kullanılmıştır.
pH metre	HI 221, Hanna	Analizlerde kullanılacak tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.
Santrifüj	Z 206 A, Hermle	Analizlerde örnek hazırlama aşamasında kullanılmıştır.
Etüv	DRY-Line, VWR	Mikroalgin ve nar kabuklarının kurutulması amacıyla kullanılmıştır.
Vorteks karıştırıcı	VM-10, Wids	Analizlerde örnek hazırlamada kullanılmıştır.
Analitik terazi	MS105DU, METTLER ($\pm 0,00001$ g hassasiyet)	Analizlerde kullanılacak kimyasalların ve örneklerin tartımında kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Cihazların özellikleri ve kullanım amaçları (devam)

Saf su cihazı	Option Q DV25, Elga Purelab	Analizlerde kullanılan saf suyun temininde kullanılmıştır.
Protein Yakma Ünitesi	Gerhardt	Protein analizi için kullanılmıştır.
Protein Distilasyon ve Titrasyon Ünitesi	Gerhardt Vapodes 45S	Protein analizi için kullanılmıştır.
Etüv	Binder ED115	Fizikokimyasal analizlerde kullanılmıştır.
Hassas Terazı	Sartorius BL 210 S	Analizlerde kullanılacak kimyasalların ve örneklerin tartımında kullanılmıştır.
Su Banyosu	Nüve BM30	Fizikokimyasal analizlerde kullanılmıştır.
HPLC	Shimadzu, Prominence-İ LC-2030C 3D Plus	Yoğurtlarda organik asit analizi için kullanılmıştır.
SEM	SEM-EDX, Carl Zeiss Evo 40, Almanya	Enkapsülasyonu doğrulamak için kullanılmıştır.
DSC	Perkin Elmer. DSC 4000, ABD	Enkapsülasyonu doğrulamak için kullanılmıştır.
FT-IR	Perkin Elmer, Spectrum Two, USA	Enkapsülasyonu doğrulamak için kullanılmıştır.
Sıcaklık Kontrollü Otomatik Çalkalayıcı	MCI-55D	Ekstraksiyon ve enkapsülasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
Su Banyosu (Isıtmalı-Çalkalamalı)	SW 23	Ekstraksiyon ve enkapsülasyon işlemlerinde kullanılmıştır.
Ta.xt plus Tekstür cihazı	Stable Micro Systems	Yoğurtlarda tekstür analizi için kullanılmıştır.
Zaman-Hız Ayarlı çalkalayıcı	Heidolph, Multi Reax	HPLC analizi öncesi hazırlık aşamasında kullanılmıştır.
Santrifüj	Sigma 3-16KL	HPLC analizi öncesi hazırlık aşamasında kullanılmıştır.
GC-MS-FID-HS	Agient Technologies7697, Headspace Sampler, 5977A	Yoğurtlarda uçucu organik bileşen analizi için kullanılmıştır.
Renk Tayin Cihazı	Hunter-Lab	Yoğurtlarda renk ölçümü için kullanılmıştır.
İnkübatör	Memmert, 100-800	Yoğurt üretimi için kullanılmıştır.
Otoklav	Nüve Steam Art Ot 40L	Rekonstitüe süt hazırlanmasında ve sterilizasyon amacıyla kullanılmıştır.

3.1.7. Kimyasallar

Analitik saflıktaki kimyasallar

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kimyasallar

Kimyasal Adı	Firma	Katalog Numarası
1,5-difenilkarbazit	Sigma-Aldrich	259225
α -karoten	Sigma-Aldrich	40395
β -karoten	Sigma-Aldrich	C4582
β -kriptoksantin	Extrasynthese	0317 S
ABTS	Sigma-Aldrich	A1888
Amonyak	İsolab	903.016
Amonyum karbonat	Sigma-Aldrich	11204
Asetonitril	İsolab	901.037
Bakır (II) sülfat pentahidrat	İsolab	911.022
Borik asit	Sigma-Aldrich	B6768
Sığır serum albümin	Sigma-Aldrich	A9418
Çinko asetat dihidrat	İsolab	996.016
Demir (III) klorid	Merck	803945
Demir (II) sülfat heptahidrat	Merck	103965
Deniz kumu	Sigma-Aldrich	274739
Ellagik asit	Sigma-Aldrich	E2250
Etil alkol	İsolab	920.027
Fenolftalein	Merck	107233
Folin-Ciocalteu reaktifi	Sigma-Aldrich	F9252
Formik asit	Merck	100264
Fosfor wolfram asidi	Sigma-Aldrich	P4006
Gallik asit	Sigma-Aldrich	27645
Glasiyal asetik asit	Sigma-Aldrich	1018302500
Gliserol	İsolab	927.023
Gümüş nitrat	İsolab	968.046
Hekzan	İsolab	930.027
Hidroklorik asit	Merck	100314
İzoamil alkol	Sigma-Aldrich	100978
Katalizör tablet	Merck	115348
<i>p</i> -Kumarik asit	Sigma-Aldrich	C9008
Magnezyum klorür	Sigma	M8266
Metil alkol	Merck	106007
Metilen mavisi	İsolab	947.D05
MRS agar	SIAL	969964

Çizelge 3.2. Kimyasallar (devam)

Kimyasal Adı	Firma	Katalog Numarası
M17 agar	SIAL	63016
Pankreatin	Sigma	P3292
Pepsin	Sigma	77160
Potasyum dihidrojen fosfat	Sigma-Aldrich	1.04873
Potasyum ferrosiyanür	İsolab	960.076
Potasyum klorür	Sigma-Aldrich	746436
Potasyum kromat	İsolab	960.046
Potasyum peroksidisülfat	Merck	105091
Potasyum sodyum tartarat tetra hidrat	SIAL	25508
Punikalin	Sigma-Aldrich	67988
Punikalagin	Sigma	P0023
Sodyum dihidrojen fosfat	Merck	141677
Sodyum bikarbonat	Sigma-Aldrich	S6014
Sodyum hidroksit	Sigma-Aldrich	795429
Sodyum karbonat	Sigma-Aldrich	791768
Sodyum klorür	SIAL	31434
Sodyum potasyum tartarat tetrahidrat	Sigma-Aldrich	217255
Sülfürik asit	İsolab	970.026
<i>ter</i> -Bütil metil eter	Merck	101845
Trietilamin	Merck	808352
Troloks	Aldrich	238813
Zeaksantin	Sigma-Aldrich	14681

3.1.8. Sarf malzemeler

Tez kapsamında kullanılan sarf malzemeler Çizelge 3.3 'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Sarf malzemeler

Malzeme Adı	Firma	Katalog Numarası	Özellikleri
Bond Elut C18 kartuş	Agilent Technologies	14256023	5 g/20 mL/120 µm
Bütirometre (Gerber)	Bursa Teknik Kimya	F63154	Ölçüm aralığı %0-8 arası, cam, tıpalı
Kaynama taşı	İsolab	030.60.006	3,0-3,5 mm çap
Kjeldahl tartım kayıkçığı	Aldrich	WHA10313032	Whatman, 609 kj
Magnet	İsolab	I.057.01.040	40x8 mm
Mikropipet	Eppendorf Research	Z683809	10 – 100 µL

Çizelge 3.3. Sarf malzemeler (devam)

Malzeme Adı	Firma	Katalog Numarası	Özellikleri
Mikropipet	Eppendorf Research	Z683825	100 – 1000 µL
Mikropipet	Eppendorf Research	Z683833	500 – 5000 µL
Süt pipeti (Gerber)	İsolab	I.021.05.011	Cam, bullu, AS kalite, grup sertifikalı, mavi skala, 11 mL

3.1.9. Çözeltiler

Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

- Lowry A çözeltisi: 0,1 M NaOH içinde %2'lik Na_2CO_3 çözülerek hazırlanmıştır.
- Lowry B çözeltisi: %1'lik $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ içinde %5'lik CuSO_4 'ın çözünmesiyle hazırlanmıştır.
- Lowry C çözeltisi: Lowry A ve Lowry B çözeltileri 50:1 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Folin-Ciocalteu çözeltisi: Folin-Ciocalteu reaktifinin 1:3 oranında saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.
- Gallik asit çözeltisi: 0,1 g Gallik asit az miktarda metil alkol ile çözülüp toplam hacim 100 mL'ye metil alkolle tamamlanarak hazırlanmıştır.

Antioksidan kapasite tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

ABTS yöntemi:

- ABTS radikal çözeltisi: 7 mM ABTS çözeltisi içinde 2,45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ su ile çözülerek 24 saat boyunca karanlık ortamda bekletilmiştir. 24 saat sonra ABTS radikal çözeltisi su ile 1:10 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır.
- Troloks çözeltisi: 0,1 g Troloks az miktarda metil alkol ile çözülüp toplam hacim 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

Chromac yöntemi:

- pH 2,8 Fosfat tamponu: 6,24 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ az miktarda su ile çözülerek %85'lik H_3PO_4 (1,685 g/mL) (0,68 mL) ile asitlendirilir ve toplam hacim su ile 1 L'ye tamamlanır.
- Potasyum klorür çözeltisi (0,2 M): 0,3725 g KCl tartılarak saf su ile 25 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- Hidroklorik asit (0,2 M): 41,45 mL derişik HCl (12,06 M) saf su ile 50 mL'ye tamamlanarak ara stok 10 M HCl hazırlanmıştır. Hazırlanan ara stoktan 0,5 mL alınarak saf su ile 25 mL'ye tamamlanarak 0,2 M HCl çözeltisi hazırlanmıştır.
- pH 1,2 Tamponu: 25 mL 0,2 M KCl ve 42,5 mL 0,2 M HCl karıştırılıp saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- Potasyum dikromat çözeltisi: 5 mg $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ toplam hacim 100 mL olacak şekilde pH 2,8 tamponu ile çözülerek hazırlanmıştır.
- 1,5-Difenilkarbazit çözeltisi ($3,4 \times 10^{-4}$ M): 0,08 mg 1,5-Difenilkarbazit toplam hacim 100 mL olacak şekilde pH 2,8 tamponu ile çözülerek hazırlanmıştır.
- Troloks çözeltisi: 0,1 g Troloks az miktarda metil alkol ile çözülüp toplam hacim 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

Cuprac yöntemi:

- $1,0 \times 10^{-2}$ M Bakır klorür çözeltisi: 0,4262 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ suda çözülerek 100 mL'ye saf su ile seyreltilmiştir.
- $7,5 \times 10^{-3}$ M Neokuproin çözeltisi: 0,0390 g Neokuproin %96'lık etil alkolde çözülerek 25 mL'ye etil alkol ile seyreltilir.
- 1 M, pH=7,0 Amonyum asetat tampon çözeltisi: 19,27 g NH_4Ac suda çözülerek 250 mL'ye saf su ile seyreltilir.

Bradford yöntemi:

- Mikroalg ekstraktı örneklerindeki toplam protein miktarının tayin edilmesi için standart sığır serum albumin (BSA) kullanılarak kalibrasyon çözeltileri

hazırlanmıştır. Her bir standart bileşik metil alkol ile çözülerek 2-40 mg/L derişim aralığında hazırlanmıştır.

Kromatografik analizler için kullanılan çözeltilerinin hazırlanması

- Ekstraktlardaki ve yoğurtlardaki fenolik bileşiklerin kantitatif tayini için standart fenolik bileşikler kullanılarak kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir standart bileşik metil alkol ile çözülerek 1-20 mg/L derişim aralığında hazırlanmıştır.
- Mikroalg ekstraktı örneklerindeki karotenoidlerin kantitatif tayini için standart karotenoid bileşikler kullanılarak kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir standart bileşik diklorometan ile çözülerek 0,25-10 mg/L derişim aralığında hazırlanmıştır.

Fizikokimyasal analizler için kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Kjeldahl yöntemi:

- Borik Asit (%3): 30 g H_3BO_3 suda çözülerek saf su ile 1 L'ye tamamlanır.
- Kostik soda (%32): 320 g NaOH suda çözülerek saf su ile 1 L'ye tamamlanır.
- Sülfirik asit (0,1 N): 0,1 N H_2SO_4 ; 2,72 mL %98'lik H_2SO_4 saf su ile 1 L'ye tamamlanır (%97'lik ile 2,74 mL kullanılır).

Gerber yöntemi:

- Yoğunluğu 1,82 g/mL olan H_2SO_4 'ten 1 L hazırlamak için, yoğunluğu 1,82 g/mL olan H_2SO_4 'in konsantrasyonu bulunur ($C=\%90,05$). $1000 \times 1,82 \times 0,9005 = 1638,91$ g saf H_2SO_4 olması gerekir. %98'lik ve yoğunluğu 1,84 olan H_2SO_4 'ten 909 mL alıp, 1 L'ye saf su ile tamamlanır.

Titre edilebilir asitlik yöntemi:

- 0,1 M Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanışı: 4,2-4,5 g arasında bir miktar NaOH tartılıp, kaynamış ve soğutulmuş saf su (CO_2 'i çıkarılmış) içinde çözülerek 1 L'ye tamamlanır.
- %1'lik Fenolftalein indikatörü çözeltisinin hazırlanışı: 1 g fenolftalein 100 mL'lik ölçülü balona tartılır, etil alkol ile çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Nişasta analizi:

- %1'lik Hidroklorik asit (HCl) çözeltisinin hazırlanışı: 22,71 mL %37'lik HCl alınarak (su için $d=1$ kabulü ile) 972,97 mL su ile karıştırılarak istenen çözelti hazırlanmış olur.
- %4'lük Wolfram fosfor asidi çözeltisinin hazırlanışı: 4 g Wolfram fosfor asidi tartılır ve saf suyla 100 mL'ye tamamlanır.

Laktoz analizi:

- Fehling A çözeltisi: 34,64 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ damıtık su ile çözülerek 500 mL'ye tamamlanır. Filtre edildikten sonra renkli şişede saklanır.
- Fehling B çözeltisi: 173 g Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ve 50 g NaOH saf suda çözülür, 500 mL'ye tamamlanır, süzülür ve renkli şişede saklanır.
- Carrez 1 çözeltisi: 219 g Çinko asetat saf suda çözülür. Üzerine 30 mL glasiyal asetik asit eklendikten sonra 1 L'ye tamamlanır.
- Carrez 2 çözeltisi: 106 g Potasyum ferrosiyanür saf suda çözülür ve 1 L'ye tamamlanır.
- %1'lik metilen mavisi indikatörü: 1g metilen mavisi 100 mL'lik ölçülü balona tartılır, etil alkolde çözülerek çizgisine kadar tamamlanır.

3.2. Yöntem

Yapılan tez çalışmaları 11 ana bölümden oluşmaktadır. Çizelge 3.4’te tez kapsamında yapılan tüm işlemlerin listesi bulunmaktadır.

Çizelge 3.4. Çalışma metodolojisi

Yöntemler			Analizin yapıldığı kurum
Mikroalg-nar kabuğu ekstraktı çifti	1. <i>Spirulina</i> mikroalgi ile yapılan çalışmalar		Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
	2. Nar kabuğu ekstraktının hazırlanması ve analizi		Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
	3. Enkapsülasyon işlemi		
	4. FT-IR, DSC ve SEM analizleri çalışmaları		Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
	5. Adsorpsiyon izoterm çalışmaları		Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
	6. Fotokimyasal kararlılık çalışmaları		
	7. Optimizasyon çalışmaları		
	8. Simüle edilen gastrointestinal koşullar altında kontrollü salınım çalışmaları		
Yoğurt örnekleri	10. Yoğurt üretimi		Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
	11. Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Spektroskopik, Duyusal/Tekstür ve İstatistiksel Analizler	Çiğ sütte yapılan analizler	
		Süt tozunda yapılan analizler	

Çalışmada öncelikle kaplama materyali olarak kullanılan mikroalg türü *Spirulina*'nın içeriğinin belirlenmesi amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Daha sonra nar kabuğunun farklı çözücü ortamlarında ekstrakte edilmesi, ekstraktların spektroskopik ve kromatografik yöntemlerle araştırılması çalışmaları yapılmıştır. Akabinde optimizasyon işlemi ve belirlenen optimize koşullarda da enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. FTIR, DSC, SEM analizleri ile enkapsülasyonun doğruluğu araştırılmıştır. Daha sonra enkapsüle edilen antioksidan madde miktarı belirlenmiş; maksimum kapsülleme verimliliği çalışmalarından sonra adsorpsiyon izoterm grafikleri elde edilmiştir. En uygun mikroalg-antioksidan çiftinin, muhafaza çalışmaları ve simüle edilen gastrointestinal koşullarda kontrollü salınım çalışmaları yapılmıştır.

Son olarak enkapsüle edilen antioksidan maddenin yoğurt depolama süresine katkısının belirlenmesi için yoğurt üretim prosesine geçilmiştir. Fermantasyondan önce süte katılan farklı katkı maddeleri ile elde edilen 6 farklı (biri kontrol) fonksiyonel yoğurtların depolama koşullarında 1., 7., 14. ve 21. günlerde mikrobiyolojik, fizikokimyasal, duysal/tekstür ve spektroskopik analizleri yapılmıştır. En son olarak da, yoğurtlarda örnek çeşitleri ve depolama süreleri arasındaki farklılığı ortaya koymak adına istatistik analizi uygulanmıştır.

3.2.1. *Spirulina* mikroalgi ile yapılan çalışmalar

Ticari olarak satın alınan hasat edilmiş *Spirulina* mikroalgi, kullanımdan önce bir gün boyunca 60°C'de etüvde kurutulmuştur. Sonra 2,5 g tartılıp 25 mL %80 (h/h) etil alkol-su karışımında 2 saat sıcaklık kontrollü bir otomatik çalkalayıcıda 35°C'de ekstrakte edilmiştir. Hazırlanan ekstraktın kromatografik yöntemle karotenoid içeriği, spektroskopik yöntemle de toplam protein içeriği belirlenmiştir.

Kapsülleme için kaplama malzemesi olarak kullanılan mikroalglerin toplam protein yüzdesinin bilinmesi oldukça önemlidir. Toplam protein miktarının tayin edilmesi için standart sığır serum albumin (BSA) ile kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Örneklerle (0,1 mL), saf su ve Lowry C çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Karışım, 30 dk boyunca karanlıkta bekletilmiş ve 750 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Örnekler için toplam protein miktarları BSA kalibrasyon

grafiği kullanılarak "sığır serum albumin eşdeğeri (BSAE)/g liyofilize alg" şeklinde hesaplanmıştır.

Aynı zamanda Kjeldahl yöntemi ile de protein tayini yapılmıştır (AOAC Official Method 991.20). 0,5-1,0 g arası *Spirulina* mikroalgi Kjeldahl tartım kayıkçığı içine tartılmış ve yakma tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 20 mL derişik H₂SO₄, 2 adet Katalizör tableti ve 4-5 kaynama taşı konularak yakma gerçekleştirilmiştir. Parçalanma işlemi üç aşamada olmuştur (150°C'de 20 dk, 300°C'de 30 dk ve 420°C'de 80 dk). Yakma işleminden sonra distilasyon yapılmıştır. Hesaplama için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

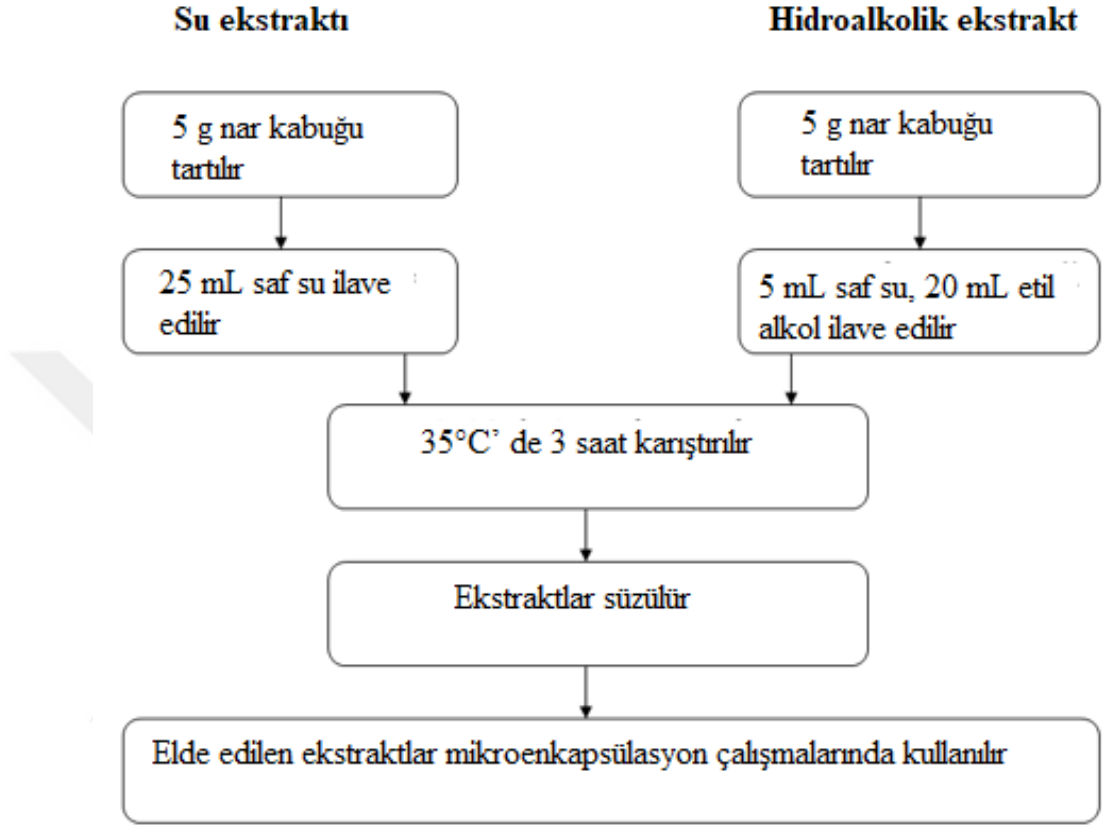
$$\begin{aligned} \% \text{ Toplam N} &= (\text{numune için harcanan H}_2\text{SO}_4 \text{ hacmi, mL} - \text{Kör için harcanan H}_2\text{SO}_4 \text{ hacmi, mL}) \times \text{H}_2\text{SO}_4 \text{'in normalite} \times 1,4007 / \text{numune hacmi, g} \\ \% \text{ Protein} &= \% \text{ N} \times 6,25 \text{ (faktör çarpanı)} \end{aligned} \quad (3.1)$$

Spirulina mikroalginde bulunan karotenoidlerin belirlenmesi için hazırlanan *Spirulina* ekstraktı Bursa Uludağ Üniversitesi'nde Agilent Technology Series 1200 HPLC sistem (Waldbronn, Almanya) ile kromatografik olarak analiz edilmiştir. Analiz sırasında YMC Karotenoid C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm, YMC Co., Ltd) kolonu kullanılmıştır. %95 metil alkol-%5 H₂O (H₂O: %0,05 trimetilamin içerir) (çözücü A) ve ter-bütıl metil eter (çözücü B), 20 µL enjeksiyon hacmi ve 1,0 mL/dk akış hızında mobil faz olarak kullanılmıştır. Gradyan koşulları şu şekildedir: 0-15 dk %5 B, 15-20 dk %20 B, 20-30 dk %30 B, 30-40 dk %40 B, 40-45 dk %75 B, 45. dk %5 B, toplam çalışma süresi 45 dk'dır. Tüm ölçümler, *Spirulina* ekstraktındaki karotenoidler için 450 nm dalga boyunda absorbans alınmıştır. Pikler, tutunma sürelerinin ve spektrumlarının standart karotenoidlerle karşılaştırılması ile belirlenmiştir.

3.2.2. Nar kabuğu ekstraktının hazırlanması ve analizi

Taze, kaliteli nar meyveleri marketten ticari olarak satın alınmıştır. Çekirdeklerinden ve nar suyundan ayrılmış nar kabukları yıkanmıştır. Sonrasında nar kabukları 48 saat boyunca 40°C'de etüvde kurutulmuştur. Kurutulan kabuklar bir blender yardımıyla

öğütülmüş, sonrasında kullanıma kadar -24°C’de saklanmıştır. Nar kabuğunun ekstrakte edilmesi hem sulu hem de hidroalkolik ortam olmak üzere iki yöntemle gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Nar kabuğu ekstraksiyonu işlem basamakları

Birinci yöntemde; 5 g kurutulmuş öğütülmüş nar kabukları bir cam balona alınmıştır. İçine 25 mL distile su konulup konulup 35°C’de 3 saat boyunca sıcaklık kontrollü otomatik çalkalayıcıda ekstraksiyon yapılmıştır. Sonra filtre kağıdından süzülüp katı fazdan ayrılan sulu ekstrakt kullanıma kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

İkinci yöntemde; 5 g kurutulmuş öğütülmüş nar kabukları bir cam balona alınmıştır. İçine 25 mL %80 (h/h) etil alkol-su karışımı konulup 35°C’de 3 saat boyunca sıcaklık kontrollü otomatik çalkalayıcıda ekstraksiyon yapılmıştır. Sonra filtre kağıdından süzülüp katı fazdan ayrılan hidroalkolik ekstrakt kullanıma kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri arasında bir fark olup olmadığını görmek için iki farklı çözücü ortamı kullanılmıştır (Singh ve diğerleri, 2018). Literatürde farklı organik nar kabuğu ekstraktları (aseton, metil alkol ve etil asetat esaslı ekstraktlar) elde edilmiş, her birinin polifenolik profili ve antibakteriyel özellikleri belirlenmiş ve organik olarak dahil edilecek potansiyel antimikrobiyal bileşenler olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır (Cano-Lamadrid ve diğerleri, 2020).

Toplam fenolik madde tayini Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi'nde Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Kalibrasyon grafiği için hazırlanan standart gallik asit çözeltileri kullanılmıştır. 0,1 M NaOH içinde %2'lik Na_2CO_3 olacak şekilde Lowry A çözeltisi ve %1'lik $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ içinde %0,5 CuSO_4 olacak şekilde Lowry B çözeltisi hazırlanmıştır. Lowry A ve Lowry B 50:1 (h/h) oranında karıştırılarak Lowry C çözeltisi hazırlanmıştır. Analiz tüplerine 2,5 mL Lowry C çözeltisi, 0,25 mL Folin-Ciocalteu reaktifi, x mL örnek/standart ve y mL (2-x) mL su eklenmiştir. Toplam fenol tayinleri için örneklerin ve standartların 750 nm'de absorbansı ölçülmüştür. En küçük kareler yöntemiyle doğru denklemi hesaplanmıştır. Örnekler için toplam fenol miktarları hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak mg gallik asit/g örnek şeklinde hesaplanmıştır (Şahin ve diğerleri, 2015).

Antioksidan kapasite tayini Bursa Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi'nde ABTS yöntemi kullanılarak yapılmıştır. ABTS yönteminde ABTS sulu çözeltisi $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ile karıştırılarak karanlıkta 12-16 saat bekletilmiştir. Süre sonunda elde edilen ABTS çözeltisi %96'lık etil alkolle 1:10 oranında seyreltilmiştir. 4 mL etil alkol ve 1 mL ABTS karıştırılarak 6. dk sonunda 734 nm dalga boyunda kör örnek için absorbans değeri okunmuştur ($A_{\text{kör}}$). Her bir örnekten x mL alınmış, üzerine (4-x) mL etil alkol ve 1 mL ABTS çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır, 6. dk sonunda 734 nm'de absorbans değeri okunmuştur ($A_{\text{örnek}}$). Ölçümler sonucunda % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (Denklem 3.5). ABTS yönteminde standart madde olarak troloks kullanılmıştır. Her bir standardın 734 nm dalga boyunda absorbans grafiğe okunarak troloks miktarına (mg) göre grafiğe geçirilmiştir. Kalibrasyon grafiğinden yararlanarak ekstraktların

antioksidan kapasite değerleri “mg troloks/g örnek” şeklinde hesaplanmıştır (şahin ve diğerleri, 2012).

Nar kabuğu sulu ve hidroalkolik ekstraktları ile *Spirulina* mikroalgi ekstraktının antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması amacıyla ABTS yönteminin yanında Chromac ve Cuprac yöntemleri de çalışılmıştır. Chromac yönteminde pH 2,8 tamponu $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve H_3PO_4 ile 1 L’ye saf suyla tamamlayarak; Cr^{6+} özeltisi tampon çözeltisi kullanılarak; 1,5-difenil karbazit çözeltisi ise 1,5-difenil karbazit katısı, aseton ve tampon çözelti ile hazırlanmıştır. pH 1,2 tamponu da KCl ve HCl ile hazırlanmıştır. Kör örnek için 0,5 mL su, 3,5 mL pH 1,2 tamponu, 0,5 mL Cr^{6+} özeltisi karıştırılmış ve 1 dk bekletilmıştir. Sonra üzerine 0,5 mL 1,5-difenil karbazit çözeltisi eklenip 50. dk sonunda 540 nm’de absorbens değeri okunmuştur ($A_{\text{kör}}$). Örnek analizi için ise x mL örnek, (0,5-x) mL su, 3,5 mL pH 2,8 tamponu ve 0,5 mL Cr^{6+} özeltisi karıştırılmıştır. Sonra üzerine 0,5 mL 1,5-difenil karbazit çözeltisi eklenip 50. dk sonunda 540 nm’de absorbens değeri okunmuştur ($A_{\text{örnek}}$). Kör-örnek hesaplaması yapılmıştır. Standart madde olarak troloks kullanılmıştır. Her bir standardın 734 nm dalga boyunda absorbens grafiğe okunarak troloks miktarına (mg) göre grafiğe geirilmıştir. Kalibrasyon grafiğinden yararlanarak ekstraktların antioksidan kapasite değerleri “mg troloks/g örnek” şeklinde hesaplanmıştır (Işık ve diğerleri, 2013).

Cuprac yönteminde ise Cu(II) klorür çözeltisi $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ katısı suda çözölerek, neokuproin çözeltisi neokuproin katısı %96’lık etil alkolde çözölerek ve amonyum asetat (pH=7,0) tampon çözeltisi de NH_4Ac katısı saf suyla özölüp seyreltilerek hazırlanmıştır. Deneysel çalışmada, 1 mL Cu(II) klorür çözeltisi, 1 mL neokuproin alkoldeki çözeltisi ve 1 mL amonyum asetat tamponu çözeltileri karıştırılmış, üzerine x mL ekstrakt, (4-x) mL saf su ilave edilmiştir. İşlemi takip eden 30 dk sonunda içerisinde antioksidan bulunmayan örneğe karşı 450 nm’de absorbens değerleri okunmuştur. Kalibrasyon grafiği için troloks çözeltileri hazırlanmıştır. En küçük kareler yöntemiyle doğru denklemi hesaplanmıştır. Ekstraktlar için antioksidan kapasite değeri hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak $\mu\text{mol troloks/g örnek}$ olarak hesaplanmıştır (Apak ve diğerleri, 2008).

Aynı zamanda hazırlanan nar kabuğu ekstraktlarında bulunan ellagik asit ve türevleri (punikalin, punikalagin ve *p*-kumarik asit) kromatografik yöntemle de belirlenmiştir.

Nar kabuğu hidroalkolik ve sulu ekstraktları Agilent Technology Series 1200 HPLC sistemi (Waldbronn, Almanya) ile kromatografik olarak analiz edilmiştir. Analiz sırasında Xbridge C18 (4,6x 250 mm, 3,5 µm, Waters) kolonu kullanılmıştır. Asetonitril ve %1 sulu formik asit gradyanlı çözelti sistemi, 10 µL enjeksiyon hacmi ve 0,5 mL/dk akış hızında mobil faz olarak kullanılmıştır. Mobil faz, su (çözücü A) ve asetonitril (çözücü B) içindeki %1 formik asittir. Gradyan koşulları şu şekildedir: 0-10 dk %13 B, 10-20 dk %41,5 B, 20-25 dk %70 B, 25-35 dk %10 B, toplam çalışma süresi 35 dk'dır. Tüm ölçümler 260, 280, 320 ve 360 nm dalga boylarında yapılmıştır.

3.2.3. Enkapsülasyon çalışmaları

Bu tez çalışmasında hasat edilmiş mikroalgin yüzeyine nar kabuğu sulu ve hidroalkolik ekstraktları ayrı ayrı enkapsüle (tutturma) edilmiştir. Bu amaçla hasat edilmiş *Spirulina* mikroalgi ticari olarak satın alınmıştır.

Literatürde daha önce yapılmış çalışmaya benzer olarak bu çalışmada da, ellagik asit kapsüllemesi 25°C'de başarılı olmamıştır, dolayısıyla ellagik asit kapsülleme verimliliği de önemsiz seviyede düşük çıkmıştır. Aynı deneyler 35°C'de tekrarlanmış olup yüksek kapsülleme verimliliği elde edilmiştir (Jafari ve diğerleri, 2016).

Enkapsülasyon için, 40 mg/mL (5 mL) nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı ile 2,5 g önceden 60°C'de etüvde bir gün boyunca kurutulmuş *Spirulina* mikroalgi bir cam balona konulup, 16 mL %99,9'luk etil alkol- 4 mL damıtık su çözücü karışımında sıcaklık kontrollü otomatik çalkalayıcıda 35°C'de 6 saat karıştırılmıştır. Yine aynı şekilde 40 mg/mL (5 mL) nar kabuğu sulu ekstraktı ile yukarıdaki işlemler tekrarlanmıştır. Diğerinden tek farkı, çözücü sistemi olarak 20 mL of %99,9 etil alkol kullanılmıştır.

2., 4. ve 6. saat aralıklarında süspansiyonlardan alınan örnekler 15'er dk 5000 devirde santrifüj edilmiştir. Sonra filtre kağıdından süzülüp geriye kalan katı kısımlar liyofilize edilmiştir (Jafari ve diğerleri, 2016; Pu ve Tang, 2017) (Çizelge 3.5). Bu denemenin amacı enkapsülasyon için gereken en uygun süreyi belirlemektir. Bu amaçla toplam fenolik madde tayini yapılmıştır.

Çizelge 3.5. Enkapsülasyon işlemine ilişkin deneme deseni

<i>Spirulina</i> mikroalgi			
Liyofilize nar kabuğu sulu ekstraktı		Liyofilize nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı	
S1	S2	HA1	HA2
2., 4. ve 6. saat örnek alınmıştır.	2., 4. ve 6. saat örnek alınmıştır.	2., 4. ve 6. saat örnek alınmıştır.	2., 4. ve 6. saat örnek alınmıştır.
15 dk, 5000 rpm santrifüj edilmiştir.	15 dk, 5000 rpm santrifüj edilmiştir.	15 dk, 5000 rpm santrifüj edilmiştir.	15 dk, 5000 rpm santrifüj edilmiştir.
Liyofilizatörde kurutulmuştur.	Liyofilizatörde kurutulmuştur.	Liyofilizatörde kurutulmuştur.	Liyofilizatörde kurutulmuştur.
FTIR, DSC, SEM ve spektroskopik analizler yapılmıştır.	FTIR, DSC, SEM ve spektroskopik analizler yapılmıştır.	FTIR, DSC, SEM ve spektroskopik analizler yapılmıştır.	FTIR, DSC, SEM ve spektroskopik analizler yapılmıştır.
Toplam 12 örnek (3 Saat dilimine ait örnek x 2 Tekrar x 2 Çeşit nar kabuğu ekstraktı)			

Mikroalg-antioksidan çifti yüzeyinin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için, belirli oranlarda standart gallik asit çözeltileri ile bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. 100 mg numune tartılıp 1 mL %80 (h/h) etil alkol-su karışımı içinde çözdükten sonra 1 dk boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra santrifüjlenmiş ekstrakttan 0,1 mL süzüntü alınıp üzerine saf su, Lowry C çözeltisi ve Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Karışım karanlıkta 30 dk bekletilmiş ve 750 nm'de absorbans ölçülmüştür. Örneklerin toplam fenolik içeriği, hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE)/g liyofilize alg olarak hesaplanmıştır.

Enkapsüle edilmemiş mikroalg için de bu işlemler tekrarlanmıştır. Sonuç olarak, tutunma %'sinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Kapsülleme verimliliğini (%EY) ve kapsülleme etkinliğini (%EE) hesaplamak için kullanılan formüller aşağıdaki gibidir:

$$\text{Kapsülleme etkinliği (\%)} = \frac{[(\text{Kapsüllenmiş ellagik asit kütlesi}) / \text{Başlangıçta eklenen toplam ellagik asit kütlesi}] * 100}{(3.2)}$$

$$\text{Kapsülleme verimliliği (\%)} = \frac{[(\text{Kapsüllenmiş ellagik asit kütlesi}) / \text{Elde edilen mikroenkapsül kütlesi}] * 100}$$

3.2.4. FT-IR, DSC ve SEM analizleri çalışmaları

Mikroalg-nar kabuğu ekstraktı çifti arasında enkapsülasyon yöntemi ile tutunma olup olmadığını yani ellagik asidin *Spirulina* hücrelerinin boşluklarına yerleşip yerleşmediğini öğrenmek için boş *Spirulina* hücreleri ve ellagik asit yüklü *Spirulina* hücreleri arasında SEM, FT-IR ve DSC karşılaştırmalı çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca mikroalg-antioksidan çifti yüzeyinin toplam fenolik madde miktarı tayini de yapılmıştır.

Ellagik asit yüklü mikroalg enkapsüllerinin karakterizasyonu FTIR spektrometresi (Perkin Elmer, Spectrum 100, ABD) cihazında analizleri yapılmıştır. FT-IR analizi, fonksiyonel grupları tanımlarken ve kaplama malzemesi (*Spirulina*) ile ekstrakt bileşenleri (ellagik asit) arasındaki ilişkiyi karakterize ederken yardımcı olmuştur.

DSC, *Spirulina*-ellagik asit kompleksini aydınlatmak için kullanılan bir diğer tekniktir. Ellagik asidin bu taşıyıcıdaki fizikokimyasal durumunu ve mikroalgle arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığını belirlemek için kullanılmıştır. Saf ellagik asit, *Spirulina* ve nar kabuğu ekstraktlı *Spirulina*'ların DSC çalışmaları, DSC Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (Perkin Elmer. DSC 4000, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Cihazın çalışma koşulları şu şekildedir: 1) 30°C'de 1 dk bekletme, 2) 10°C/dk ile 30°C'den 400°C'ye ısıtma, 3) 400°C'de 5 dk bekletme ve 4) 400°C'den 30°C'ye 10°C/dk ile soğutma.

SEM analizi, hizmet alımı şeklinde Bursa Uludağ Üniversitesi Fizik Bölümü'nde yaptırılmıştır. *Spirulina* üzerine mikroenkapsülenmiş ellagik asidin yüzey morfolojisi, 10-20 Kv'ta SEM (Carl Zeiss Evo 40, Almanya) cihazı ile incelenmiştir. Ellagik asit yüklü olan ve olmayan mikroalgler, alüminyum çubuklar üzerine monte edilmiş ve püskürtme ile altınla kaplanmıştır.

3.2.5. Adsorpsiyon izoterm çalışmaları

Toplam fenolik madde miktarı çalışmaları sonucunda maksimum kapsülleme verimliliği (%) 2 saat sonra elde edildiğinden uygun karıştırma süresi olarak belirlenmiştir. Daha sonra liyofilize edilmiş nar kabuğu ekstraktlarından farklı miktarlarda (4, 8, 16, 24, 32 ve 40 mg/mL) alınıp, *Spirulina* mikroalgi ile su ve %80 (h/h) etil alkol-su çözücü ortamlarında ayrı ayrı cam balonlara konulup otomatik çalkayıcıda 35°C'de 2'şer saat karıştırılmıştır. 2. saat sonunda alınan örnekler 15 dk 5000 devirde santrifüj edilmiştir. Sonra filtre kağıdından süzülüp geriye kalan katı kısım liyofilize edilmiştir. Süzüntüde tutunmadan geriye kalan ellagik asit miktarları kromatografik yöntemle tayin edilmiştir. Başlangıç miktarlarından, tutunmadan geriye kalan ellagik asit miktarları çıkartılarak mikroalg üzerinde enkapsüle edilen ellagik asit miktarları bulunmuştur.

Adsorpsiyon dengesi kurulduktan sonra, çözelti fazında adsorbe edilen maddenin sabit konsantrasyonu genellikle sabit sıcaklıkta konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak belirlenir. İzoterm modellerini belirlemek için hidroalkolik/sulu ekstrakt deneylerinden elde edilen veriler kullanılmıştır. Burada ellagik asidin *Spirulina* üzerine adsorpsiyonu için Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri kullanılmıştır ve bu miktar değerleri kullanılarak izoterm grafikleri çıkartılmıştır (Jafari ve diğerleri, 2016; Pu ve Tang, 2017).

3.2.6. Fotokimyasal kararlılık çalışmaları

Mikroalg-nar kabuğu ekstraktı çiftinin fotokimyasal kararlılığı, toplam fenolik içerik yöntemiyle belirlenmiştir. Ayrıca mikroalgler üzerindeki ellagik asit miktarının belirlenmesi için HPLC analizi kullanılmıştır. Buna göre mikroenkapsülenmiş mikroalg-nar kabuğu hidroalkolik/sulu ekstraktları buzdolabında 21 gün +4°C'de

bekletilmiş ve her hafta sonunda toplam fenolik içerik belirlenmiştir. 7 gün aralıklarla alınan numuneler %80 (h/h) etil alkol-su karışımı içinde çözülmüş ve 1 dk vortekslenmiştir. Katı ve sıvı kısım ayrıldıktan sonra sıvı ekstrakt ile ölçümler yapılmıştır.

3.2.7. Optimizasyon çalışmaları

Doğal bileşiklerin kararlılığı ve antioksidan özellikleri; sıcaklık, matriks, pH, enzimlerin varlığı gibi potansiyel faktörlere ve diğer faktörlere bağlıdır (Dag ve diğerleri, 2017). Bu tez çalışmasında yapılan çalışmalar ve bilimsel araştırmalar neticesinde, daha önce rastgele seçilen koşullarda yapılan enkapsülasyon işleminin optimum koşullar altında yapılması bir gereklilik haline gelmiştir. Optimizasyon, bilindiği gibi, bir sistemi mümkün olan en az maliyetle en verimli hale getirmek için uygulanan işlem veya yöntemlerin hepsidir. Burada enkapsülasyon işlemini mümkün olan en iyi duruma getirmek için tercih edilmiştir.

Kapsülleme verimliliği, serbest radikal süpürme aktivitesi ve toplam/yüzey fenolik içerik gibi parametreler mikroenkapsülasyon işlemi değişkenlerinin optimizasyonundan etkilenir. Aynı zamanda zaman, maliyet ve işçilikten tasarruf sağlanır. Bu tez çalışmasında, nar kabuğu hidroalkolik ekstraktından ellagik asidin *Spirulina* üzerine mikroenkapsülasyonu optimize edilmiştir.

Enkapsülasyon işlemi parametrelerini optimize etmek ve tek faktörlü deney sonuçlarına dayanarak faktörler arasındaki etkileşimleri gözlemlemek için basit ve etkili teknik olan Box-Behnken tasarımı (BBD) (Sharif ve diğerleri, 2014), optimal deney koşullarını seçmek için ise etkin bir istatistiksel yöntem olan yüzey analiz yöntemi (RSM) kullanılmıştır. RSM, faktörler arasındaki etkileşimleri incelemek ve işlem parametrelerini optimize etmek için kullanılabilen bir istatistiksel tekniktir (Xu ve diğerleri, 2015).

Yüzey analiz yöntemi aynı zamanda, gıda endüstrisinde, gıda ürünlerini geliştirmek için ve de elde edilecek son ürünün tepkilerini etkileyecek iki veya daha fazla faktöre sahip

işlemleri optimize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (De Souza Neves Ellendersen ve diğerleri, 2012; Peña ve diğerleri, 2014). Meyvelerin yan ürünleri gibi bitkisel kaynakların fitokimyasallarının ekstraksiyonu sırasında sıcaklık, süre, karıştırma hızı gibi parametreleri de optimize eden ve yaygın olarak kullanılan optimizasyon aracıdır. Genellikle merkezi kompozit döndürülebilir tasarım için geçerlidir (Jorge ve diğerleri, 2013; Li ve diğerleri, 2012; Yim ve diğerleri, 2012). Endüstriyel önemi olan farklı biyoteknolojik ve biyokimyasal ürünleri üretmek ve optimize etmek için de sık kullanılmaktadır (Şahin ve diğerleri, 2016).

Optimum mikroenkapsülleme elde etmek için üç seviyeli, üç değişkenli Box-Behnken tasarımı ile birleştirilmiş yanıt yüzeyi metodolojisi uygulanmıştır. Bu üç bağımsız değişkeni optimize etmek için merkez noktasında 5 tekrar içeren 17 deneyli bir Box-Behnken tasarımı (BBD) ile birleştirilmiş yanıt yüzeyi metodolojisi uygulanmak üzere tasarlanmıştır (Denklem 3.3).

$$N=2k(k-1)+C_k \dots\dots\dots(k: \text{faktör sayısı}, C_k: \text{merkez noktalar}) \quad (3.3)$$

$$N=2.3(3-1)+5=17 \text{ deney}$$

Tez çalışmasında enkapsülasyon işleminin parametrelerini optimize etmek, enkapsülasyon değişkenleri arasındaki etkileşimleri araştırmak ve maksimum kapsülleme verimliliği üzerindeki etkisini araştırmak için farklı koşullar incelenmiştir (Çizelge 3.6). Burada bağımsız değişkenler olarak sıcaklık (°C), enkapsülasyon süresi (dk) ve ekstrakt/mikroalg oranı (mL/g) seçilmiştir.

Çizelge 3.6. BBD’de kullanılan bağımsız değişkenler ve aralıkları

Bağımsız değişkenler	Faktör	Kodlanmış ve gerçek seviyeler		
		-1	0	+1
Sıcaklık (°C)	x_1	25	35	45
Enkapsülasyon süresi (dk)	x_3	30	105	180
Ekstrakt/Mikroalg (mL/g)	x_2	1	2	3

Çizelge 3.6, BBD’de ellagik asit enkapsüllemesi için kullanılan bağımsız değişkenlerin gerçek ve kodlanmış seviyelerini göstermektedir. Bağımsız değişkenler ve bunların

seviyeleri, ekstraksiyon sıcaklığı (25 ile 45°C), enkapsülleme süresi (30 ile 180 dk) ve ekstrakt/mikroalg oranı (1 ile 3 mL/g) olarak belirlenmiştir. *Spirulina* üzerinde enkapsüllenen ellagik asit miktarı, tasarım deneylerinin (y) yanıt değişkeni olarak seçilmiştir.

Tüm etkileşim terimlerini içeren ikinci dereceden polinom Denklem 3.4, mikroalgde enkapsüllenen tahmini ellagik asit miktarını hesaplamak için kullanılmıştır.

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} x_i x_j \quad (3.4)$$

Burada y yanıt değişkenidir, b_0 ofset terimidir, b_i doğrusal etkidir, b_{ii} ikinci dereceden etkidir, b_{ij} etkileşim etkisidir ve x_i ve x_j bağımsız değişkenlerdir.

Çizelge 3.7. BBD’de enkapsülasyon için tasarlanan deney tablosu

Deney	Faktörler		
	x_1 Sıcaklık (°C)	x_2 Enkapsülasyon süresi (dk)	x_3 Ekstrakt/Mikroalg (mL/g)
1	25	30	2
2	45	30	2
3	25	180	2
4	45	180	2
5	25	105	1
6	45	105	1
7	25	105	3
8	45	105	3
9	35	30	1
10	35	180	1
11	35	30	3
12	35	180	3
13	35	105	2
14	35	105	2
15	35	105	2
16	35	105	2
17	35	105	2

On yedi deney beş kez artırılarak gerçek hatayı belirlemek için merkez noktalara uygulamak üzere tasarlanmıştır (Çizelge 3.7).

Deneysel sonuçların analizi için Design Expert programı (7.0.0 versiyonu) seçilmiştir. Yukarıdaki denklemde gösterildiği gibi ikinci dereceden polinom modeli elde etmek için bağımsız değişkenlerin ve yanıt değişkenlerinin ilgili verileri analiz edilmiştir.

Optimum koşullar altında yapılan enkapsülasyon işlemi sonrası elde edilen mikroalg-nar kabuğu ekstraktı çifti bu tez çalışmasının daha sonraki tüm basamaklarında kullanılmıştır.

3.2.8. Simüle edilen gastrointestinal koşullar altında kontrollü salınım çalışmaları

Ellagik asit yüklü mikroenkapsüller, sindirimden sonra ellagik asit ve türevlerinin potansiyel mevcudiyeti için önemli bir başlangıç ölçüsü olan *in vitro* salım çalışmaları ile karakterize edilmiştir (Fawole ve Opara, 2016). Mikroalgde enkapsüllenen ellagik asidin gastrointestinal geçişi sırasında simüle edilmiş gastrik koşullar altında mikroalg yüzeyinden kontrollü salınımı araştırılarak, mikroenkapsüllemenin ellagik asidin salınım özellikleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Simüle edilmiş gastrointestinal sıvılarla *in vitro* sindirimin sonuçları, ellagik asidin içeriğinin ve biyolojik aktivitesinin belirlenmesi ve mikroenkapsülasyon sürecini optimize etme konusunda çalışan diğer araştırmacılara rehberlik edecektir.

Simüle gastrointestinal şartlar altında serbest bırakılan kapsüllenmiş antioksidan maddenin spektroskopik analizi için toplam fenolik içeriğin belirlenmesinde Folin-Ciocalteu yöntemi, kromatografik analizi için antioksidan maddenin miktarının belirlenmesinde HPLC-DAD analizi, antioksidan kapasitenin belirlenmesinde ise ABTS yöntemi yardımcı olmuştur (Cilek ve diğerleri, 2012; Sariburun ve diğerleri, 2010). Enkapsüllerin yapısal özelliklerini değerlendirmek ve serbest bırakma kinetiğini incelemek için enkapsüle edilen antioksidan maddenin *in vitro* sindirimi ve mikroalg yüzeyinden kontrollü salınımı, mide ve bağırsak sıvısının simülasyonu ile sıcaklık kontrollü otomatik çalkalayıcıda gerçekleştirilmiştir.

Simüle edilen gastrik sıvının (SGF) insan vücudunda olduğu gibi yapılması için, 2 g NaCl, 3,2 g pepsin ile muamele edilmiştir. Sonrasında, 7 mL HCl eklenip son hacim su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. Karışımın pH'sı 1,2'ye ayarlanmıştır. Daha sonra, 50 mg kapsüllenen mikroalg, 10 mL'lik bir test tüpünde (80 rpm'de inkübe edilmiştir), 37°C'de 120 dk boyunca 0,7 mL SGF ile karıştırılmıştır. Tüpler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, süzöntü 0,2 M NaOH çözeltisi ile nötralize edilmiştir.

Simüle edilmiş bağırsak sıvısı (SIF) için, 6,8 g KH_2P_0_4 suda (250 mL) çözülmüştür. Üzerine 77 mL 0,2 M NaOH ve 500 mL distile su eklenmiştir. Sonra 10 g pankreatin ile muamele edilip son hacim 1 L'ye saf suyla tamamlanmıştır. Karışımın pH'sı 0,2 M NaOH ve 0,2 M HCl ile 6,8'e ayarlanmıştır. Daha sonra, 50 mg kapsüllenen mikroalg, 10 mL'lik bir test tüpünde 1,2 mL SIF ile muamele edilip çalkalama olmadan 37°C'de 120 dk boyunca bir su banyosunda bekletilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan karışım süzülüp ardından aktivasyonun inhibisyonu için 100 mL 3M HCl ile süzöntünün pH'sı 1,2'ye ayarlanmıştır. 15 dk bekletildikten sonra çözelti, 900 mL 0,2M NaOH ile nötralize edilmiştir (pH 7,0) (Dag ve diğerleri, 2017)..

Fenolik bileşiklerin toplam miktarını belirlemek için, belirli oranlarda standart gallik asit çözeltileri ile bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. 100 mg numune tartılıp 1 mL %80 (h/h) etil alkol-su karışımı içinde çözdükten sonra 1 dk boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra santrifüjlenmiş ekstraktan 0,1 mL süzöntü alınıp üzerine saf su, Lowry C çözeltisi ve Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Karışım karanlıkta 30 dk bekletilmiş ve 750 nm'de absorbans ölçülmüştür. Örneklerin toplam fenolik içeriği, hesaplanan kalibrasyon denklemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE)/g liyofilize alg olarak hesaplanmıştır.

Aynı zamanda kontrollü salınım çalışmalarından sonra da, ekstraktın (100 μL) toplam fenolik madde içeriği belirlenmiştir.

ABTS yöntemi için, 7 mM ABTS sulu çözeltisi, 2,45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ile karıştırılmış ve 12-16 saat boyunca karanlıkta tutulmuştur. Süre sonunda elde edilen ABTS çözeltisi, %96 etil alkol ile 1:10 oranında seyreltilmiştir. 4 mL etil alkol ve 1 mL ABTS ile 6. dk

sonunda, kör örnek için 734 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. Her numunenin üzerine (4-x) mL etil alkol ve 1 mL ABTS çözeltisi ilave edilip absorbans değeri 6. dk sonunda 734 nm’de okunmuştur. % İnhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kör}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kör}}} \times 100 \quad (3.5)$$

ABTS yönteminde standart madde olarak Trolox kullanılmış olup belirli miktarlarda hazırlanan standart çözeltilerin 734 nm dalga boyundaki absorbansları trolox (mg) miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir. Bu kalibrasyon grafiği kullanılarak, ekstraktların antioksidan kapasite değerleri mg trolox eşdeğeri (TE)/g örnek olarak hesaplanmıştır.

Aynı zamanda kontrollü salınım çalışmalarından sonra da, ekstraktın antioksidan kapasitesi (100 µL) belirlenmiştir.

Simüle edilen gastrointestinal şartlar altında mikroalg üzerine enkapsüle edilen antioksidan maddenin salınım davranışı için kapsüllenmiş mikroalg ile 120’şer dk çalışıldıktan sonra çözelti ortamına salınan kapsüllenmiş antioksidan maddenin miktarı sindirimden önce ve sindirimden sonra HPLC ile hesaplanmıştır.

3.2.9. Yoğurt üretimi

Denemenin düzenlenmesi

Yoğurt üretiminde, ürünler 100 g’lık ağzı kapaklı steril plastik kaplara yerleştirilmiştir. +4±1°C sıcaklıktaki buzdolabında depolanan örneklerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal/tekstür analizleri depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde yapılmıştır.

Çalışma aşağıda belirtilen deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8.Yoğurt üretimine ilişkin deneme deseni

Ürün Çeşidi	Uygulama Şekli	Depolama Süresi (Gün)			
		1	7	14	21
YC	Kontrol grubu yoğurt örneği				
YM	%1 <i>Spirulina</i> mikroalgi katılmış yoğurt örneği				
YNS	%1 Nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış yoğurt örneği				
YNSE	%1 Enkapsüle nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış yoğurt örneği				
YNH	%1 Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı katılmış yoğurt örneği				
YNHE	%1 Enkapsüle nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı katılmış yoğurt örneği				

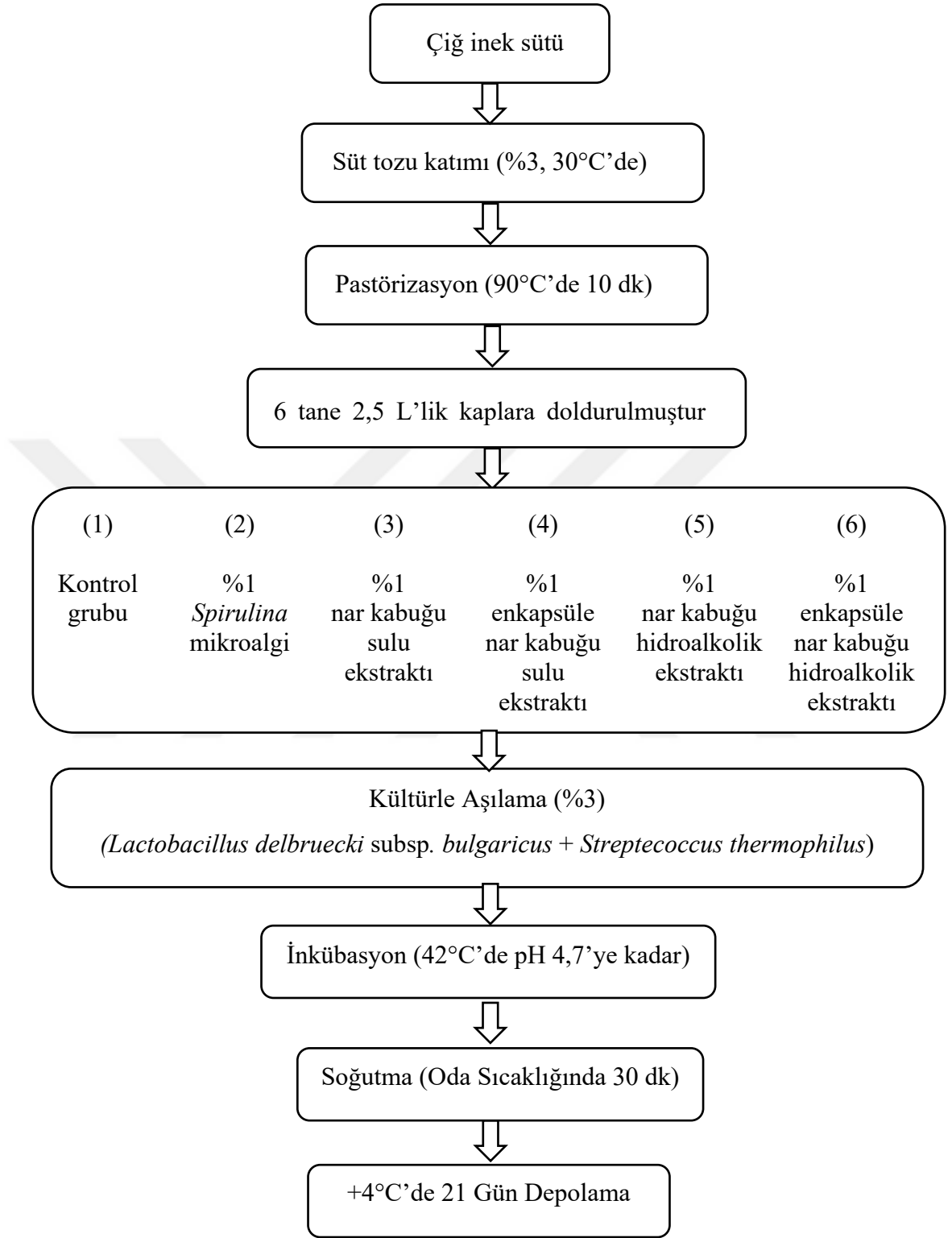
Starter Kültürün Aktive Edilmesi

Yoğurt üretim prosesinde kullanılacak olan starter kültür (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus*) 1 gün önce aktif hale getirilmek üzere hazırlanmıştır. Liyofilize kültürlerden işletme kültürü eldesinde öncelikle rekonstitüe süt hazırlanmıştır. 72 g yağsız süt tozu 600 mL saf su içerisinde, süt tozunun iyice çözünmesi için yaklaşık 1 saat boyunca oda sıcaklığında ultrasonik banyoda karışması sağlanmıştır. Hazırlanan substrat (12 g/100 mL) özel kapaklı şişelere aktarılmış ve 121°C’de 15 dk sterilize edilmiştir. 45°C’ye soğutulan substratın içine aseptik koşullarda starter kültür aşılanmış ve inkübatöre konulmuştur.

Aseptik ortam koşullarının sağlanmaması durumunda kontamine olabilen mikroorganizmalar, starter kültürün aktivitesini ve yoğurt kalitesini olumsuz etkilemektedir. Bu sıcaklıkta inkübasyondayken pH 5’e ulaşana kadar bekletilmiştir. Hazırlanan kültür +4°C’ye soğutulmuş ve kullanıma kadar bu sıcaklıkta bekletilmiştir.

Yoğurt üretimi

Çalışmada yoğurt üretiminde kullanılan çiğ süt Bursa’da faaliyet gösteren bir süt işletmesinden ticari olarak satın alınmıştır. Süt işletmesine ait sabah sağımından alınan 15 L çiğ inek sütü iyice karıştırılarak yaklaşık 40°C’de homojen hale getirilmiştir.



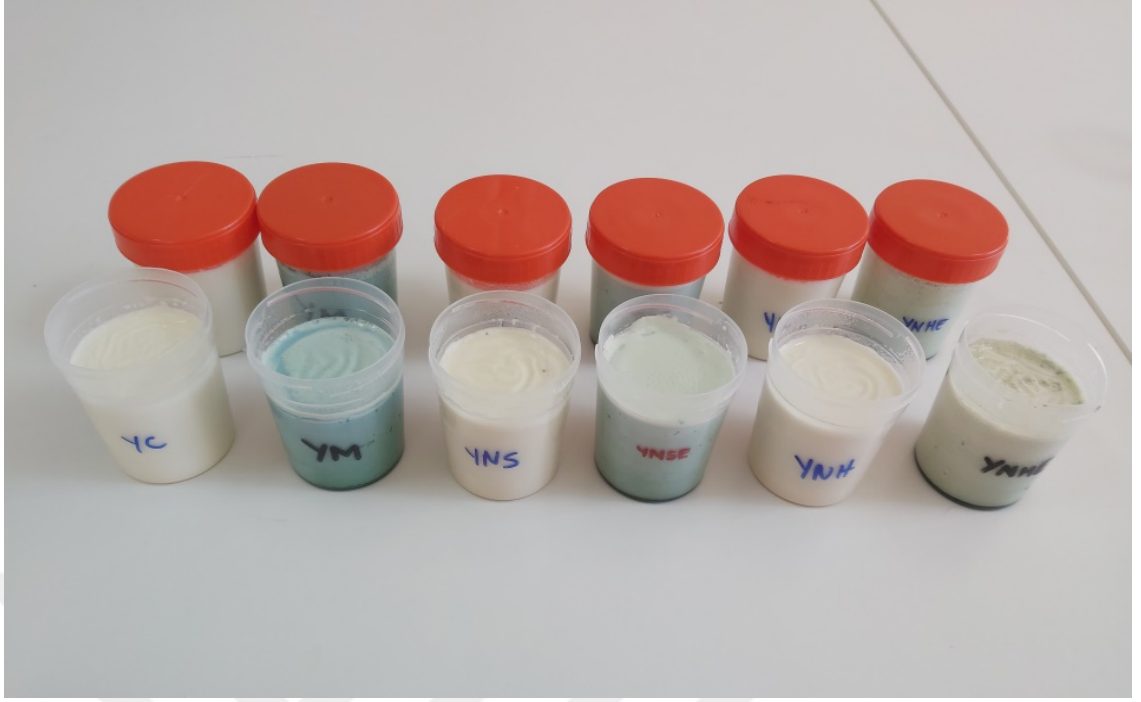
Şekil 3.2. Yoğurt üretim prosesi işlem basamakları

Yoğurt üretim prosesine ait akış şeması Şekil 3.2'deki gibidir. Daha önceden steril edilmiş çelik bir tencereye alınarak çiğ inek sütünün kuru maddesini artırmak amacıyla 30°C'ye ısıtılmış, bu sıcaklıkta %3 oranında yağsız süt tozu katılmıştır. 90°C'de 10 dk ısıtılmış ve 60-70°C'ye soğutulan süt 6 farklı steril plastik kaba paylaştırılmıştır. Sıcaklık yaklaşık 50°C'ye geldiğinde ise kontrol grubu dışındaki kaplara 25 mL ekstraktlardan, 25'er g *Spirulina* mikroalgi ve enkapsüle ekstraktlardan eklenmiştir. Hidroalkolik ekstraktın çözücüsü eklenmeden önce N₂ gazı altında ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Daha sonra kültür grubu için önerilen inkübasyon sıcaklığına (45°C) soğutulmuştur. %3 oranında starter kültür ile aşılanan 6 farklı süt, steril karıştırıcılarla karıştırılmış 100 mL'lik steril plastik kaplara aktarılmıştır.

İnkübasyon süreci yoğurdun karakteristik tat/aroma ve tekstürel özelliklerinin oluşmasında çok önemli bir basamaktır. İnkübatöre konulan yoğurtların 1'er saat aralıklarla pH kontrolleri yapılmıştır. pH 4,7'ye gelen örnekler inkübatörden çıkarılmış ve oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek buzdolabına (+4°C) alınmış ve burada 21 gün boyunca depolanmak üzere saklanmıştır.

Elde edilen yoğurtların kodlarıyla birlikte fiziksel görünümüne ait görüntü Şekil 3.3'te yer almaktadır. YC kontrol grubunu, YM %1 *Spirulina* mikroalgi katılmış grubu, YNS %1 nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış grubu, YNSE %1 enkapsüle nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış grubu, YNH %1 nar kabuğu hidroalkolikekstraktı katılmış grubu, YNHE %1 enkapsüle nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı katılmış grubu temsil etmektedir. Şekil 3.3'te de görüldüğü gibi, mikroalgin direkt eklendiği örneğin (YM) rengi, enkapsüle mikroalgli örneklerin (YNSE, YNHE) renklerine nazaran daha koyu yeşildir.



Şekil 3.3. Üretilen 6 farklı yoğurt örneği (YC, YM, YNS, YNSE, YNH, YNHE)

Üretim sonrası steril numune kaplarında dolumu yapılan yoğurtların buzdolabı koşullarındaki depolamasının 1., 7., 14. ve 21. günlerinde analizleri yapılmak üzere yoğurt numuneleri alınmıştır.

3.2.10. Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Spektroskopik, Duyusal/Tekstür ve İstatistiksel Analizler

Bu tez çalışmasında yapılan fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal/tekstür analizlerin listesi ve analizlerde kullanılan yöntemler Çizelge 3.9’da listelenmiştir.

Üretimde kullanılan çiğ süt ve süt tozu ve üretimden sonra biri kontrol olmak üzere 6 farklı yoğurt olmak üzere 3 grup altında analizler yapılmıştır. Her bir analizin yapılması planlanmış yöntemlerinin isimleri de belirtilmiştir.

Çizelge 3.9. Fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal/tekstür analizlerin listesi

Analizler					
Çiğ Süt	Süt tozu		Yoğurt		
Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı (ISO 4833-1 Yöntemi)	Süt Tozunda Yağ Miktarı Tayini (TS1330 Yöntemi)		Yoğurtta Serum Ayrılması (Sezgin ve ark 1994)		
			Yoğurtta Organik Asit Analizi (HPLC ile)		
Sütte Kuru Madde Tayini (TS1330 Yöntemi)	Süt Tozunda Toplam Protein Tayini (AOAC Official Method 991.20)		Yoğurtta Asetaldehit Tayini (GC ile)		
Sütte Yağ Miktarı Tayini (TS1330 Yöntemi)	Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Yoğurtta M17 ve MRS Agar Tayini (ISO 7889 Yöntemi)		
			Yoğurtta Kuru Madde Tayini (TS1330 Yöntemi)		
Yoğurtta Süt Yağsız Kuru madde Miktarı (TS1330 Yöntemi)					
Yoğurtta Yağ Miktarı Tayini (TS1330 Yöntemi)					
Yoğurtta pH Tayini (TS 591 yöntemi)					
Yoğurtta Titre Edilebilir Asitlik Tayini (TS1330 Yöntemi)					
Sütte Süt Yağsız Kuru madde Oranı (TS1330 Yöntemi)		Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Yoğurtta pH Tayini (TS 591 yöntemi)	
				Yoğurtta Titre Edilebilir Asitlik Tayini (TS1330 Yöntemi)	
Yoğurtta Kül Tayini (GMMAM yöntemi)					
Yoğurtta Toplam Protein Tayini (AOAC Official Method 991.20)					
Sütte Toplam Protein Tayini (AOAC Official Method 991.20)			Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Yoğurtta Laktoz Miktarı (AOAC 930.28 Yöntemi)
	Yoğurtta Duyusal Muayene (TS 1330 Yöntemi)				
Sütte pH Tayini (TS 591 yöntemi)	Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)			Süt Tozunda Karbohidrat Hesaplanması İçin Nişasta miktarı (GMAM)	Tekstürel Parametrelerin Tayini (Tekstür cihazı ile), Renk Ölçümü (TS 1466)
Sütte Titre Edilebilir Asitlik Tayini (TS1330 Yöntemi)					

Çiğ Sütte Yapılan Analizler

Yoğurt üretiminde kullanılan çiğ sütün işleme alınmadan önce fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal/tekstür analizleri yapılmıştır. Fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için kuru madde, yağ miktarı, süt yağsız kuru madde oranı, toplam protein, pH ve titre edilebilir asitlik analizleri yapılmıştır.

Kuru madde analizinde, sabit tartımdaki kurutma kapları kapaklarıyla tartılarak darası tespit edilmiştir. Çiğ süttten kurutma kabına 3-4 mL kadar tartılmıştır. Kurutma kabı ve kapakları $102\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'a ayarlanmış etüvde 3 saat bırakıldıktan sonra kapakları kapatılarak desikatöre alınmış ve oda sıcaklığında tartılmıştır.

Yağ analizinde, çiğ süt 40°C 'lik su banyosunda bekletilmiş ve homojenleştirilmiştir. Bütirometrenin içine 10 mL sülfirik asit ($\text{dH}_2\text{SO}_4=1,82 \text{ g/mL}$), pipetle alınan 11 mL süt örneği ve 1 mL izoamil alkol ($d=0,812-0,818 \text{ g/mL}$) eklenmiştir. Bütirometre tıpa ile kapatılıp alt üst edilerek santrifüje yerleştirilip 5 dk süre ile 55°C 'de santrifüjlendikten sonra yağ değeri okunmuştur.

Süt örneklerinde süt yağsız kuru madde oranı, kuru madde değeriinden süt yağı değeri çıkarılarak hesaplanmıştır.

Toplam protein analizinde, çiğ süttten ~2 mL Kjeldahl tartım kayıkçığına tartılmış ve yakma tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 20 mL derişik sülfirik asit, 2 adet katalizör tableti ve 4-5 kaynama taşı konularak yakma işlemi yapılmıştır. Tüpler 30 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış ve distilasyon işlemine geçilmiştir. % Toplam N üzerinden % toplam protein hesaplanmıştır.

pH analizinde, çiğ sütün içine pH-metrenin elektrodu daldırılıp enstrümental olarak ölçülmüştür.

Titre edilebilir asitlik analizinde, çiğ süttten 25 mL alınıp üzerine 1 mL %1'lik fenolftalein çözeltisi eklenmiştir. 0,1 M sodyum hidroksit çözeltisi ile 5 sn sabit kalabilen hafif pembe renge kadar titre edilip sarfiyat kaydedilmiştir.

Üretimde kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik analizi için ise toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı analizi yapılmıştır (Çizelge 3.9). Çiğ süttten 1/10'luk seri dilüsyonlar hazırlanarak petri kaplarına ekimler yapılmış ve $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 ± 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. En son olarak koloni sayımı gerçekleştirilmiştir.

Süt Tozunda Yapılan Analizler

Yoğurt üretiminde kullanılan süt tozunun da işlem alınmadan önce kimyasal analizleri yapılmıştır. Yoğurt üretiminde kullanılan süt tozunun kimyasal özelliklerinin belirlenmesi için yağ miktarı ve toplam protein analizleri ile karbohidrat hesaplanmasında kullanılan nişasta ve laktoz miktarı analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.9).

Yağ miktarı analizinde, bütirometrenin içine 10 mL sülfürik asit ve 3 mL saf su konulmuş, üzerine 1,69 g süt tozu tartılmıştır. 1 mL izoamil alkol ile yeteri kadar damıtık su eklenmiş ve süt tozu eriyinceye kadar alt üst edilip su banyosunda bekletilmiştir. 5 dk santrifüjden sonra yağ değeri okunmuştur.

Toplam protein analizi yukarıda belirtildiği gibi ~0,5 g süt tozu ile gerçekleştirilmiştir.

Nişasta ve laktoz miktarlarının % olarak toplamı karbohidrat miktarının yüzdesini belirler.

Nişasta analizinde, 5 g süt tozu 100 mL'lik ölçü balonuna alınmış, üzerine 2 kere 25'er mL %1'lik HCl eklenmiştir. Kaynamakta olan su banyosunda 15 dk bektildikten sonra üzerine 30-35 mL saf su ve 10 mL fosfor wolfram asidi konulmuş ve çizgisine kadar saf suyla tamamlanmıştır. Süzgeç kağıdından süzülüp, süzüntü polarimetre tüpüne alınarak çevirme derecesi ölçülmüştür.

Laktoz analizinde ise süt tozundan 2,5 g 250 mL’lik ölçü balonuna tartılmıştır. 5’er mL Carrez I ve Carrez II eklendikten sonra balon çizgisine tamamlanmış, 2 mL daha su eklenmiştir. 15 dk bekledikten sonra süzölmüştür. Süzöntüden 50 mL, 100 mL’lik ölçü balonuna konulup çizgisine kadar su ile tamamlanmıştır ve sonra titrasyon yapıp sarfiyat kaydedilmiştir.

Yoğurtta Yapılan Analizler

Yoğurt üretimi gerçekleştirildikten sonra depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal/tekstür analizleri bütün yoğurtlarda 2 paralelli olarak yapılmıştır (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10. Yoğurtlarda yapılan analizlere ait deneme deseni

Yoğurt Örnekleri					
1. Kontrol grubu yoğurt örneği	2. <i>Spirulina</i> mikroalgi katılmış yoğurt örneği	3. Nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış yoğurt örneği	4. Enkapsüle nar kabuğu sulu ekstraktı katılmış yoğurt örneği	5. Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı katılmış yoğurt örneği	6. Enkapsüle nar kabuğu hidroalkolik ekstraktı katılmış yoğurt örneği
21 gün boyunca +4°C’de depolanmıştır.					
1.Gün alınan örnek (2 Tekrar)	7.Gün alınan örnek (2 Tekrar)	14.Gün alınan örnek (2 Tekrar)	21.Gün alınan örnek (2 Tekrar)		
Fizikokimyasal analizler	Fizikokimyasal analizler	Fizikokimyasal analizler	Fizikokimyasal analizler		
Mikrobiyolojik analizler	Mikrobiyolojik analizler	Mikrobiyolojik analizler	Mikrobiyolojik analizler		
Spektroskopik analizler	Spektroskopik analizler	Spektroskopik analizler	Spektroskopik analizler		
Duyusal/Tekstür Profil Analizleri	Duyusal/Tekstür Profil Analizleri	Duyusal/Tekstür Profil Analizleri	Duyusal/Tekstür Profil Analizleri		
6 x 2 x 4=48 örnek					

Elde edilen 6 farklı yoğurt türünün fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için kuru madde, süt yağsız kuru madde oranı, yağ miktarı, pH, titre edilebilir asitlik, kül, toplam protein ve laktoz analizleri yapılmıştır.

Kuru madde analizinde, sabit tartımdaki içinde 25 g kadar kum ve cam çubuk bulunan kurutma kapları kapaklarıyla tartılarak darası tespit edilmiştir. Homojen haldeki yoğurttan kurutma kabına ~3 g kadar tartılmış, yoğurt cam çubukla bir miktar saf su konularak kumla karıştırılmıştır. Kurutma kap ve kapakları $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'a ayarlanmış etüvde 2 saat 30 dk bırakıldıktan sonra kapakları kapatılarak desikatöre alınmış ve oda sıcaklığında tartılmıştır.

Yağ analizinde, homojenleştirilmiş yoğurttan behere 50 g tartılmış, üzerine 5 mL amonyak çözeltisi (%25'lik) eklenmiştir. Cam çubukla karıştırılmıştır. Bütirometrenin içine 10 mL sülfirik asit ($\text{dH}_2\text{SO}_4=1,82 \text{ g/mL}$), pipetle alınan 11 mL süt örneği ve 1 mL izoamil alkol ($\text{d}=0,812\text{-}0,818 \text{ g/mL}$) eklenmiştir. Bütirometre tıpa ile kapatılıp alt üst edilerek santrifüje yerleştirilip 5 dk süre ile 55°C 'de santrifüjlendikten sonra yağ değeri okunmuştur.

Yoğurt örneklerinde süt yağsız kuru madde oranı, kuru madde değerinden süt yağı değeri çıkarılarak hesaplanmıştır.

pH analizinde, yoğurdun içine pH-metrenin elektrodu daldırılıp enstrümental olarak ölçülmüştür.

Titre edilebilir asitlik analizinde, yoğurttan behere 10 g tartılıp üzerine 10 mL 40°C 'ye getirilmiş saf sudan eklenmiştir. Sonra 1 mL %1'lik fenolftalein çözeltisi konulup 0,1 M sodyum hidroksit çözeltisi ile 5 sn sabit kalabilen hafif pembe renge kadar titre edilip sarfiyat kaydedilmiştir.

Kül tayininde, önceden darası alınmış porselen krozeğe yoğurttan ~2 g tartılmış, bek alevinde ön yakma işlemi yapılmıştır. Sonra $500\text{-}600^{\circ}\text{C}$ 'a ayarlanmış kül fırınına homojen beyazımsı bir renk alıncaya kadar (~6 saat) konulmuştur. Desikatörde soğutulularak, tartılmıştır.

Toplam protein analizi yukarıda belirtildiği gibi ~1,5-2 g yoğurt ile gerçekleştirilmiştir.

Laktoz analizinde ise süt tozundan 20 g 250 mL'lik ölçü balonuna tartılmıştır. 2'şer mL Carrez I ve Carrez II eklendikten sonra balon çizgisine tamamlanmış, 2 mL daha su eklenmiştir. 15 dk bekledikten sonra süzölmüştür. Süzöntüden 50 mL, 100 mL'lik ölçü balonuna konulup çizgisine kadar su ile tamamlanmıştır ve sonra titrasyon yapıp sarfiyat kaydedilmiştir.

Yoğurtların mikrobiyolojik analizi için ise M17 ve MRS agar tayini yapılmıştır (Çizelge 3.9). Yoğurttan alınan en az 10 g numune 90 mL MRD ile aseptik koşullarda homojenize edildikten sonra 1/10'luk seri dilüsyonlar hazırlanarak her iki bakteri türüne ait petri kaplarına ayrı ayrı ekimler yapılmış ve 37°C'de *Laktobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* sayımı için 72 saat, *Streptococcus thermophilus* sayımı için 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. En son olarak koloni sayımı gerçekleştirilmiştir.

Serum ayrılması analizinde ise tartılan miktarlardan (25 g) buzdolabı sıcaklığında (+4°C) 2 saat sonunda kaba filtre kağıdından geçerek ayrılan serumlar volumetrik olarak (mL) ölçölüp hesaplanmıştır (Çizelge 3.9).

Aynı zamanda üretilen yoğurtların spektroskopik analizleri de yapılmıştır. Ölçümler 3'er paralel olarak alınmıştır. 6 farklı yoğurt örneğinden 1 g alınıp üzerine 5 mL %80 (h/h) etil alkol-su karışımı eklenmiş ve 1 dk vorteks edilmiştir. Daha sonra tüpler 3000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilerek santrifügattan 100 µL alınıp Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu yöntemi, antioksidan kapasite tayini için ABTS yöntemi yapılmıştır.

Elde edilen 6 farklı yoğurtta bulunan organik asitlerin analizi depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde alınan örnekler üzerinden Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde HPLC-DAD ile kromatografik olarak yapılmış olup, ppm cinsinden tespit edilmiştir. Bunun için 6 farklı gruptan 2'şer g yoğurt numunesi falkon tüplere tartılmış, üzerilerine 40'ar mL saf su konulmuştur. Heidoph marka çalkalayıcıda 50 rpm'de 1 saat boyunca çalkalanmıştır. Daha sonra Sigma marka santrifüjde 22°C ve 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edilip santrifügattan şırınga ile çekilmiş ve 0,45 µm'lik hidrofilik PVDF Millipore Millex-HV filtreden viallere süzölmüştür. Yoğurt örneği

ekstraktları Shimadzu Prominence-İ LC-2030C 3D Plus Liquid Chromatograph sistemi ile analiz edilmiştir. Analiz sırasında AQ-C18 (4,0 x 150mm, 3µm) kolonu kullanılmıştır. 20 dk'lık izokritik akışta fosfat tamponu (0,002 M KH₂PO₄ ile hazırlanmış KH₂PO₄/o-H₃PO₄, pH=2,40) çözelti sistemi olarak hazırlanmış, 10 µL enjeksiyon hacmi ve 0,6 mL/dk akış hızında mobil faz olarak kullanılmıştır. Ölçümler tespit edilen organik asitlere göre farklı dalga boylarında yapılmıştır (Çizelge 3.9).

Yine elde edilen 6 farklı yoğurtta bulunan karbonil bileşenlerinin analizi de Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde depolamanın başında (1. gün) ve sonunda (21. gün) alınan örneklerde 5977A kodlu Agient Technologies GC-MS-FID-HS sistemi ile yapılmıştır. Cihaz 7697A kodlu Headspace Sampler ve 7890B GC sistemlerinden oluşmaktadır. 5'er g tartılan yoğurt örnekleri GC-Headspace viallerine konulmuştur. Aroma kaybı olmaması için crimper ile kapakları hemen kapatılmış ve analize alınmıştır (Çizelge 3.9).

Tekstür profil analizleri kapsamında viskozite (index of viscosity), kıvam (consistency), iç yapışkanlık (cohesiveness) ve sıklık (firmness) analizleri Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Duyusal Laboratuvarı'nda TA.XT-plus Texture Analyser (Stable Micro Systems) cihazı ile yapılmıştır. Ölçümlerde "back extrusion cell" ve 5 kg'lık "load cell" kullanılmıştır. "Yoghurt Project" başlıklı proje ile çalışılmış olup testler 1 mm/sn hızda ve 10 mm daldırma mesafesinde yapılmıştır. Analiz için 100'er mL steril kaplardaki yoğurt örnekleri depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde yoğurda özel A/BE-d35, "Back Extrusion Rig" 35 mm disk takılı proba işleme alınmıştır. Sonuçlar toplanarak analiz edilmiştir.

Renk ölçümünde ise L/a/b değerlerinin tespiti için renk tayini cihazı (Hunter-Lab) kullanılmıştır. Analiz öncesinde refraktometre açılarak 5 dk optik ışık yoğunluğunun dengelenmesi için beklenmiştir. Behere alınan bir kısım numune saf su ile seyreltilip, homojen hale getirilmiştir. Örnekler refraktometrede 20°C suda çözünür kuru maddesi 12 brikse getirilene kadar seyreltilerek karıştırılmıştır. Hunter Lab okuma kabına ve cihaza yerleştirilmiş ve 6 farklı yoğurdun değeri paralelli olarak okunmuştur (TS 1466).

Üretimi gerçekleştirilen 6 farklı yoğurdun depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde alınan örneklerinin duyusal değerlendirilmesi, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Duyusal Laboratuvarı'nda daha önceden duyusal muayene eğitimi almış 6 kişilik bir ekip ve tez danışmanı Bursa Uludağ Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Saliha Şahin tarafından gerçekleştirilmiştir. Yoğurtla renk, görünüş, kıvam (kaşıkta), kıvam (ağızda), koku, tat, duyusal asitlik ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine göre 5 puanlık skala kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca yoğurtların satın alma niyetleri de “Kesinlikle Alırım”, “Alırım”, “Belirsiz”, “Almam” ve “Kesinlikle Almam” şeklinde derecelendirilmiştir. Duyusal muayene için kullanılan formun bir örneği aşağıdaki gibidir (Şekil 3.4).

Tüm analizlerde elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için, yoğurtlarda örnek çeşitleri ve depolama süreleri arasındaki farklılığı belirlemek üzere tesadüf parselleri deneme deseni ile buna göre varyans analizi uygulanmıştır. Örneklerde temel istatistiki değerler belirlenmiş ve varyans analizi sonuçlarına göre önemli bulunan varyasyon kaynaklarının, Fischer çoklu karşılaştırma testi ile $p<0.05$ düzeyinde karşılaştırmaları yapılmıştır. Sonuç olarak, örnek çeşidi ve depolama sürelerinin oluşturdukları farklılıklar ortaya konulmuştur (MINITAB 17 Statistical Software).

...gün YOĞURT DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU						
Panelistin Adı Soyadı :				Tarih : ... / ... /		
Ürün Adı :				Saat : ... : ...		
Kalite Kriterleri	Örnek Adları/Kodları					
	YC	YM	YNS	YNSE	YNH	YNHE
Renk						
Görünüş						
Kıvam (Kaşıқта)						
Kıvam (Ağızda)						
Koku						
Tat						
Duyusal Asitlik						
Genel Kabul Edilebilirlik						
Açıklama: Aşağıda verilen kalite kriterleri açısından size verilen kodlu örnekleri ayrı ayrı 5 puan üzerinden değerlendiriniz.						
Puan Değerleri İle İlgili Açıklama	1. Çok Kötü	2. Kötü	3. Orta	4. İyi	5. Çok İyi	
Kalite Kriterleri İle İlgili Açıklama						
İstenen Özellikler			İstenmeyen Özellikler			
Renk:- Temiz, parlak-Homojen renk dağılımı -Temiz, mat (Daha az) Görünüş:- Serum ayrılması olmamış -Çatlak ve gaz kabarcığı bulunmayan, homojen -Pürüzsüz yapı -Yabancı Madde İçermeyen Kıvam (Kaşıқта):- Kesitte dolgun, düzgün yapıda, homojen -Karıştırıldığında koyu bir akıcılık-Serumu hemen ayrılmayan, serumu az ayrılan Kıvam (Ağızda):- Dille damak arasında kolayca dağılmayan, en az dağılan -Dolgun yapıda, homojen Koku:- Kendine özgü -Hoş koku -Yosun kokusu -Meyvemsi koku Tat:- Kendine özgü (hafif ekşimsi) -Hafif ekşimsi, Hafif Tatlımsı (Daha az) -Yosunumsu tat -Meyvemsi tat			Renk:- Temiz olmayan, mat -Homojen olmayan renk dağılımı -Gözenekli/ lekeli/ çatlak Görünüş:- Serum ayrılması olmuş -Çok sayıda çatlak ve gaz kabarcığı olan, homojen olmayan -Pütürlü yapı -Gözle görülebilen her türlü yabancı madde Kıvam (Kaşıқта):- Kesitte çok akıcı, homojen olmayan ve pütürlü -Karıştırıldığında çok akıcı-Serumu hemen ve fazla miktarda ayrılan Kıvam (Ağızda):- Dille damak arasında tutulamayan, akıcı -Dipte tortu bulunduran Koku:- Kendine özgü olmayan -Yavan ya da ekşi koku -Sabunumsu -Küf kokusu Tat:- Ekşi acımsı, küfümsü, yem kokusu -Yoğun düzeyde yabancı tat, kükürt, acılık, küf, asidite			
SATIN ALMA NİYETİ	Kesinlikle Alırım	Alırım	Belirsiz	Kesinlikle Almam	Almam	
Örnek Adları/Kodları						

Şekil 3.4. Duyusal muayene form örneği

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. *Spirulina* Mikroalgi ile Yapılan Çalışmalar

Toplam protein miktarının tayin edilmesi için standart sığır serum albumin (BSA) ile çizilen Çizelge 4.1'deki kalibrasyon grafiği değerleri kullanılarak *Spirulina* mikroalginin toplam proteini $40,00 \pm 0,01$ olarak hesaplanmıştır.

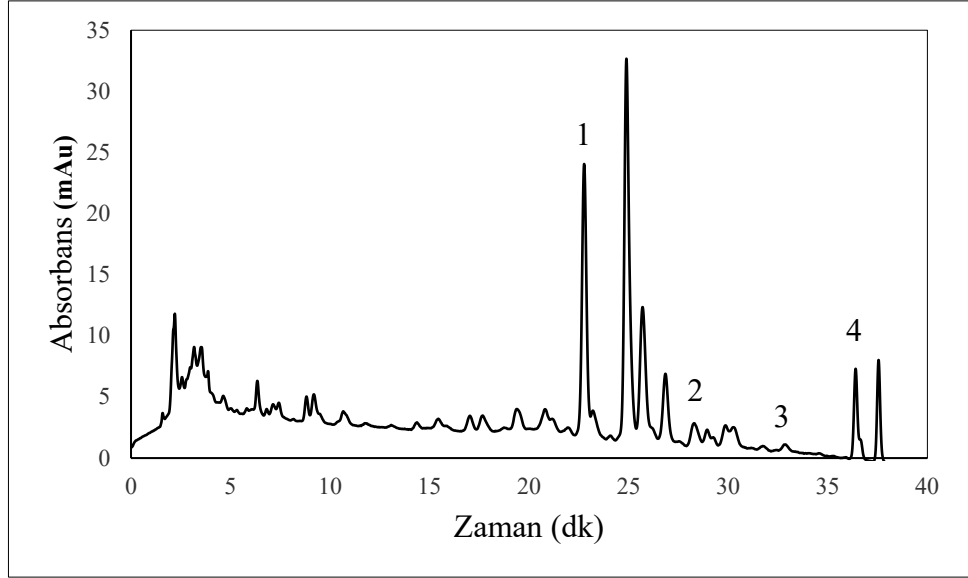
Çizelge 4.1. *Spirulina* mikroalginin toplam protein miktarı tayini

Derişim (mg/L BSA)	y denklemi	R ²
2-40	$y=0,0155x+0,0177$	0,9992

Kjeldahl metodu ile yapılan protein tayinine göre ise benzer şekilde *Spirulina* mikroalginin toplam proteini $41,55 \pm 2,44$ (%95 k=2) olarak hesaplanmıştır (F=1,0 Kör:0,1) (AOAC Official Method 991.20). *Spirulina*'nın bu yüksek protein değerinin, katıldığı gıdada toplam proteini artırabileceği düşünülmektedir.

Mikroalg yüzeyindeki heterojenez fonksiyonel grupların, aktif malzeme yükleme kapasitesi güçlüdür (Domozych, 2011). Çalıştığımız yüksek protein içerikli *Spirulina* mikroalgi de ellagik asit enkapsülasyonu açısından avantaj sağlamaktadır. Ayrıca ellagik asit protein bileşeninde olduğu gibi lipid, polisakkarit vb. diğer fonksiyonel gruplarla da etkileşime girebildiğinden, mikroalg hücreleri üzerine kapsüllenmesinde kolaylık sağlanacaktır.

Spirulina ekstraktı ile yapılan kromatografik analiz sonuçlarına göre tutunma süreleri standart karotenoidler ile karşılaştırılarak pikler elde edilmiş ve sonuçta dört farklı karotenoid tespit edilmiştir. Bu karotenoidler, Şekil 4.1'de görüldüğü gibi α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin ve zeaksantindir.



Şekil 4.1. *Spirulina* hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (450 nm) **1.** Zeaksantin (22.76 dk) **2.** β-kriptoksantin (28.28 dk) **3.** α-karoten (32.94 dk) **4.** β- karoten (36.40 dk)

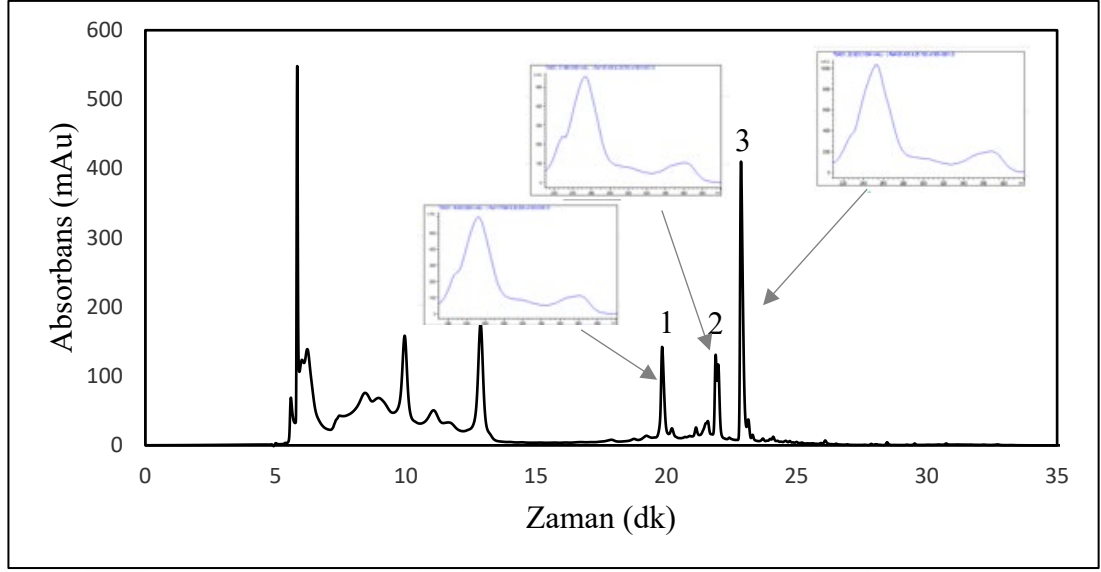
Standart karotenoidler tarafından çizilen kalibrasyon grafiklerinin y denklemine ve kromatogramda tespit edilen karotenoidlerin pik alanlarına göre, *Spirulina* mikroalgindeki α-karoten 11,93 mg/kg, β-karoten 18,81 mg/kg, β-kriptoksantin 28,01 mg/kg ve zeaksantin 16,58 mg/kg olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Mikroalgde miktarcı en çok bulunan karotenoid β-kriptoksantindir.

Çizelge 4.2. Karotenoidlerin HPLC-DAD analiz koşulları

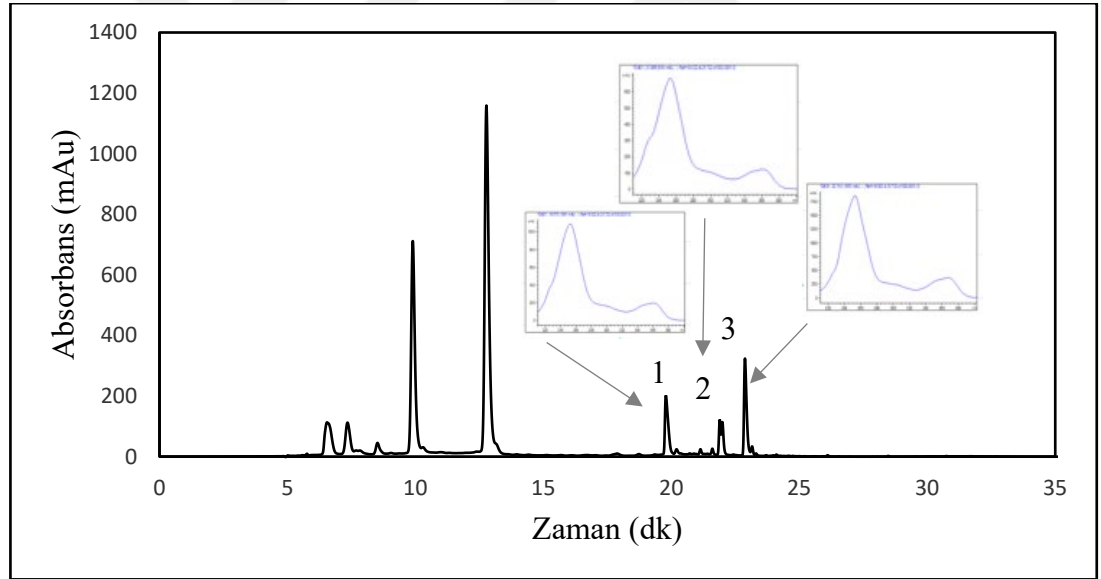
Karotenoid	Derişim (mg/L)	y denklemleri	R ²	<i>Spirulina</i> mikroalginde bulunan miktar (mg/kg)
α-Karoten	0,25-10	y=118,09x-17,225	0,999	11,93
β- Karoten		y=154,56x-19,5	0,998	18,81
β-kriptoksantin		y=57,735x-22,287	0,997	28,01
Zeaksantin		y=265,7x-23,055	0,998	16,58

4.2. Nar Kabuğı Ekstraktlarının Analizi

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te nar kabuğunun hidroalkolik ve sulu ekstraktlarına ait kromatogramları görölmektedir. Kromatogramlara bakıldığında ellagik asit 22,82 dk (hidroalkolik ekstrakt) ve 22,74 dk (sulu ekstrakt)'larda tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (360 nm) 1. Ellagik asit türevi (19.64 dk) 2. Ellagik asit türevi (21.89 dk) 3. Ellagik asit (22.82 dk)



Şekil 4.3. Nar kabuğu sulu ekstraktının HPLC kromatogramı (360 nm) 1. Ellagik asit türevi (19.58 dk) 2. Ellagik asit türevi (21.87 dk) 3. Ellagik asit (22.74 dk)

HPLC kromatogramlarına göre nar kabuğu ekstraktlarındaki ellagik asit miktarları kalibrasyon grafiğinin y denklemine göre hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

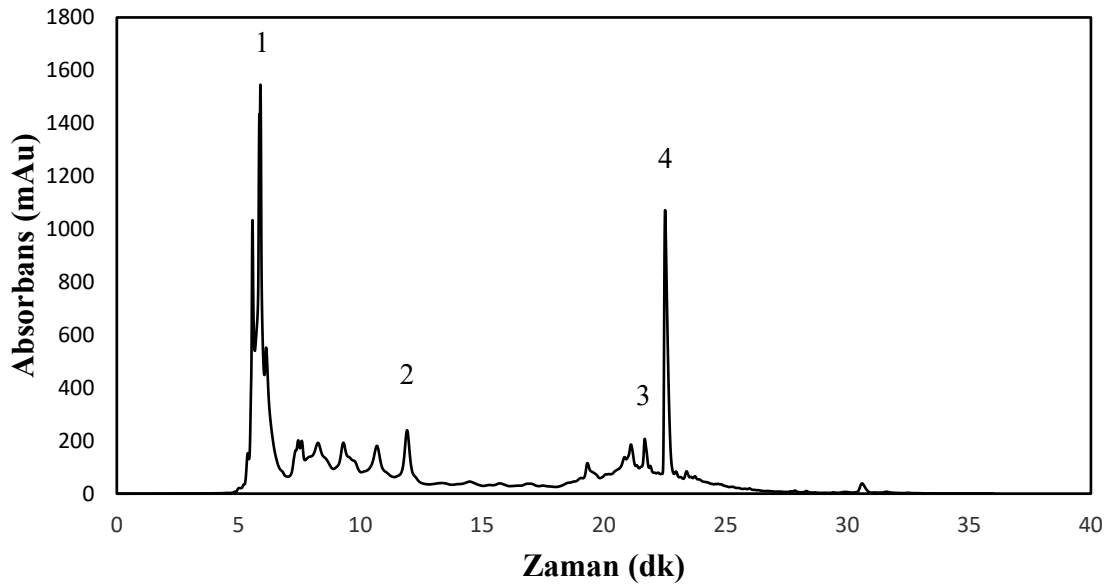
Çizelge 4.3. Nar kabuğu ekstraktlarında bulunan ellagik asit miktarı

Derişim (mg/L ellagik asit)	y denklemi	R ²
3-24	y=10,45x-23,592	0,9909

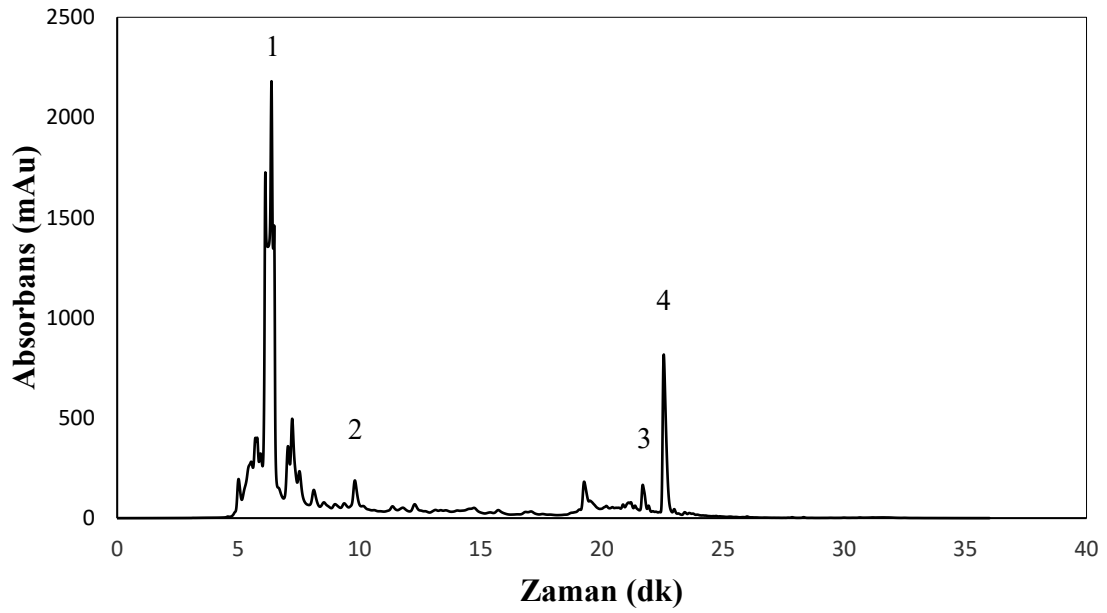
Buna göre nar kabuğu hidroalkolik ekstraktında 6,83 mg/g örnek, sulu ekstraktında ise 4,07 mg/g örnek olarak belirlenmiştir.

Ekstraktlarda bulunan punikalin, punikalagin ve *p*-kumarik asidin de temin edilen standartlarla HPLC-DAD analizleri yine aynı çalışma koşulları ile yapılmıştır. Tüm ölçümler 260, 280, 320 ve 360 nm dalga boylarında yapılmıştır.

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te nar kabuğunun hidroalkolik ve sulu ekstraktlarına ait kromatogramları görülmektedir. Kromatogramlara bakıldığında punikalin 5.73 dk'da, punikalagin 12.05 dk'da, *p*-kumarik asit 24.16 dk'da tespit edilmiştir. Ellagik asit ise 23.32 dk'da tespit edilmiştir. Bu HPLC analizleri ön denemelerle eş zamanlı yapılmadığı için alıkonma zamanlarında farklılık oluşmuştur.



Şekil 4.4. Nar kabuğu hidroalkolik ekstraktının HPLC kromatogramı (280 nm) 1. Punikalin (5.73 dk) 2. Punikalagin (12.05 dk) 3. Ellagik asit (23.32 dk) 4. *p*-Kumarik asit (24.16 dk)



Şekil 4.5. Nar kabuğu sulu ekstraktının HPLC kromatogramı (280 nm) 1. Punikalin (5.73 dk) 2. Punikalagin (12.05 dk) 3. Ellagik asit (23.32 dk) 4. *p*-Kumarik asit (24.16 dk)

Çizelge 4.4. Kalibrasyon grafikleri

	Doğrusal aralık(ppm)	y denklemi	R ²
	Sulu/Hidroalkolik ekstrakt		
Punikalin	3-20 ppm	$y = 67,411x - 88,958$	0,9955
Punikalagin	5-20 ppm	$y = 9,9797x - 20,957$	0,9952
Ellagik asit	1-20 ppm	$y = 43,281x - 11,731$	0,9991
<i>p</i>-kumarik asit	1-20 ppm	$y = 131,27x + 5,0257$	0,9999

HPLC kromatogramlarına göre nar kabuğu ekstraktlarındaki punikalin, punikalagin, ellagik asit ve *p*-kumarik asidin miktarları kalibrasyon grafiğinin y denklemine göre hesaplanmıştır. Buna göre nar kabuğu hidroalkolik ekstraktında ve sulu ekstraktında ayrı ayrı belirlenen miktarlara Çizelge 4.5'te yer verilmiştir. Sonuç olarak, sulu ekstrakt içinde en fazla bulunan fenolik bileşik ellagik asit (4,84 mg/g) ve punikalagin (4,38 mg/g); hidroalkolik ekstrakt içinde en fazla bulunan fenolik madde ise punikalagin (13,24 mg/g) ve punikalindir (6,43 mg/g).

Çizelge 4.5. Nar kabuğu ekstraktlarında bulunan fenolikler

Fenolik bileşikler	Su ekstrakt (mg/g)	Hidroalkolik ekstrakt (mg/g)
Punikalin	1,81 ± 0,03	6,43 ± 0,42
Punikalagin	4,38 ± 0,04	13,24 ± 0,15
Ellagik asit	4,84 ± 0,08	5,06 ± 0,03
p-kumarik asit	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,00

Nar kabuğunun ekstraksiyon verimini hesaplayabilmek için 4 farklı fenolik bileşik için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır (Çizelge 4.6). Pik alanlarının belirlenmesi için her bir standart fenolik bileşikten Çizelge 4.4'te belirlenen derişim aralıklarında hazırlanmıştır. Kromatografik olarak incelenip her bir standardın pik alanları belirlenmiş olup doğru denklemleri kullanılarak asıl derişimlerine geçilmiştir. Aynı zamanda belirlenen derişimlerde hazırlanan standart fenolik bileşiklerin nar kabuğu ile aynı koşullarda ekstraksiyonu yapılarak kromatografik olarak incelenmiş ve pik alanları belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonraki derişimler yine standartların doğru denklemi üzerinden hesaplanmıştır. Sonuç olarak, elde edilen verilerle 4 standart fenolik bileşiğinin ekstraksiyondan sonraki % verim değerleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Geri kazanım çalışmaları (n=3)

	λ (nm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)	Geri kazanım verimi (%)	
					Sulu	Hidroalkolik
Punikalin	260	0,56	1,86	1,13	111,84±1,26	110,02 ± 5,20
Punikalagin	260	0,52	1,73	0,65	106,04±1,77	102,53 ± 6,73
Ellagik asit	360	0,06	0,19	1,51	95,75 ±3,39	100,27 ± 2,76
p-kumarik asit	320	0,08	0,27	1,16	94,63±5,43	106,05 ± 1,13

Tez çalışmasında kullanılan nar kabuğu ve *Spirulina* ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarını belirlemek için Folin-Ciocalteu yöntemi, antioksidan kapasitelerini belirlemek için ise ABTS, Chromac ve Cuprac yöntemleri kullanılmıştır.

Elde edilen veriler Çizelge 4.7'de verilmiştir. Buna göre, sulu ekstraktın (36,07 mg GAE/g örnek) toplam fenolik madde miktarı hidroalkolik ekstrakta (31,72 mg GAE/g örnek) göre daha fazladır. Antioksidan kapasite açısından ABTS ve Chromac

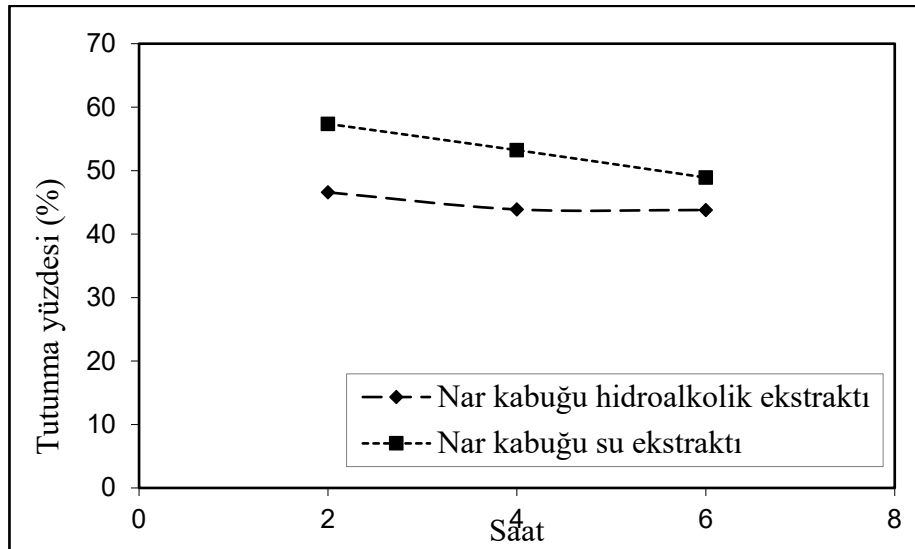
yöntemlerine göre sulu ekstrakt daha fazla iken; Cuprac yöntemine göre hidroalkolik ekstraktın antioksidan kapasitesi daha yüksek bulunmuştur. *Spirulina* ekstraktının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi nar kabuğu ekstraktlarına nazaran daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde tayin sonuçları

	mg troloks/g örnek±std sapma			mg GAE/ g örnek ±std sapma
	ABTS	Chromac	Cuprac	Folin
Sulu ekstrakt	282,83±7,85	63,29±0,06	478,46±13,81	36,07±0,30
Hidroalkolik ekstrakt	201,67±1,84	60,00±0,41	494,76±0,27	31,72±1,90
<i>Spirulina</i> ekstraktı	77,63±1,20	4,62±3,97	3,68±0,45	8,38±0,98

4.3. Enkapsülasyon Çalışmaları

Ellagik asidin *Spirulina* üzerine adsorpsiyonu, karıştırma süresinin bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. Bölüm 3.2.3'te de belirtildiği gibi, ilk olarak nar kabuğu hidroalkolik/sulu ekstraktları ve *Spirulina* 6 saat boyunca hidroalkolik/sulu çözücü ortamlarında ayrı ayrı enkapsülenmiştir. 2., 4. ve 6. saat aralıklarından alınan numuneler karakterize edilmiştir.



Şekil 4.6. 2., 4. ve 6. saat aralıklarında tutunma yüzdesi (%) grafiği

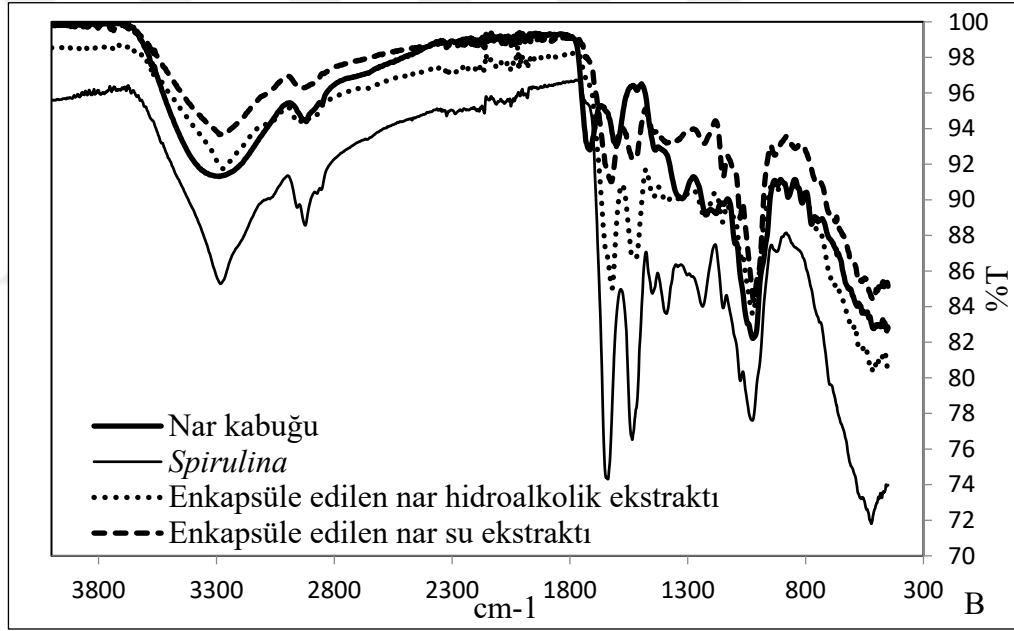
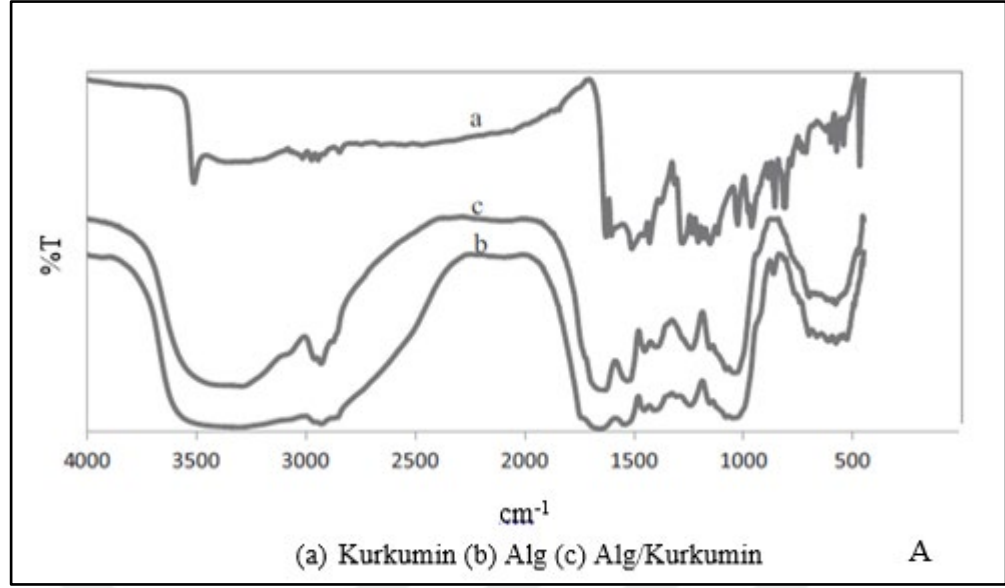
Şekil 4.6’da gösterildiği gibi, mikroenkapsülleme süresi arttığında enkapsülleme verimliliği azalmıştır. Buna göre, mikroenkapsüllemenin maksimum verimde gerçekleştirildiği süre 2 saat olarak belirlenmiştir. Bu saatin sonunda ellagik asidin maksimum adsorpsiyon kapasitesi (qm) $56,2 \pm 1,7$ mg/100 mg *Spirulina* (EY=%56,2)’dır. Daha sonra, belirlenen bu süre içinde adsorpsiyon izotermi ile ilgili diğer prosedürler gerçekleştirilmiştir.

4.4. FT-IR, DSC ve SEM Analizleri Çalışmaları

FT-IR çalışmaları kapsamında çalışılmış nar kabuğu ekstraktı, *Spirulina* ve enkapsüllemiş nar kabuğu hidroalkolik/sulu ekstraktlarına ait tüm pikler Şekil 4.7 b’de verilmiştir. *Spirulina* üzerine mikroenkapsüllemiş hidroalkolik/sulu ekstraktların IR spektrumları ile yüklü olmayan *Spirulina* spektrumu benzerdir. Neredeyse aynı piklere ve bantlara rastlanmıştır. Buradan, nar kabuğundan ekstrakte edilen ellagik asidin mikroalg hücreleri içine mikroenkapsüllemesinin başarıyla gerçekleştiği düşünülmüştür.

Nar kabuğu spektrumunu diğerlerinden ayıran şey ise daha çok ellagik asit ile ilgili spektrum bantlarıdır. *Spirulina* hücre bileşenleriyle etkileşiminden dolayı nar kabuğunda oluşmuş piklerin büyük çoğunluğu diğer 3 spektrumda gözlemlenmemiştir. Referans çalışmaya bakarak da mikroenkapsüllemenin gerçekleştiği kanısına varılmıştır (Jafari ve diğerleri, 2016). Burada da yine benzer pikler/bantlar görülmektedir. Alg ile kurkuminin etkileşimine ait pikler algin pikleri ile benzerdir (Şekil 4.7 a).

Şekil 4.7 b’ye detaylı olarak bakıldığında, tüm numune spektrumlarında -OH gerilmesi ve moleküller arası hidrojen bağlarından dolayı geniş bir bant tespit edilmiştir. Nar kabuğu için 3288 cm^{-1} , *Spirulina* için 3283 cm^{-1} , hidroalkolik ekstrakt mikroenkapsülü için 3273 cm^{-1} ve sulu ekstrakt mikroenkapsülü için 3277 cm^{-1} civarındadır. Nar kabuğunun piki, diğerlerinden farklı olup daha geniştir.



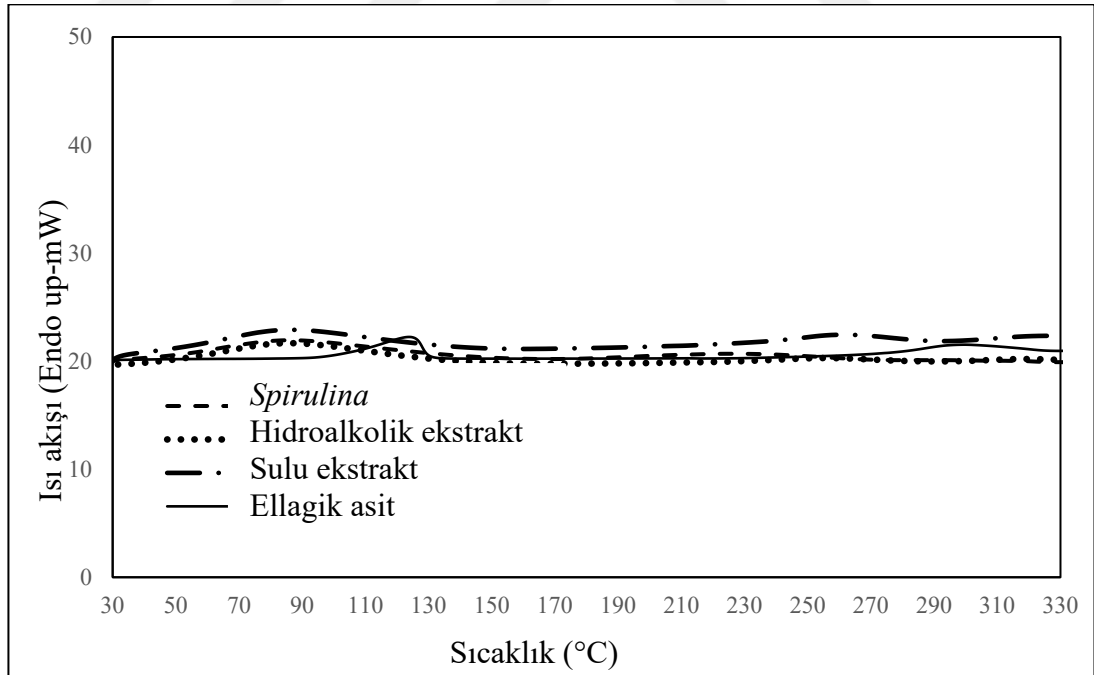
Şekil 4.7. FTIR spektrumları **a.** Referans çalışma **b.** Tez çalışması

Nar kabuğu dışındaki spektrumlarda, $-CH_3$ asimetrik gerilme titreşimleri gözlenmiştir (*Spirulina* 2957 cm^{-1} , hidroalkolik ekstrakt mikroenkapsülü 2959 cm^{-1} ve sulu ekstrakt mikroenkapsülü 2956 cm^{-1}). C-H simetrik gerilme titreşimleri ise nar kabuğunda 2851 cm^{-1} , *Spirulina*'da 2846 cm^{-1} , hidroalkolik ekstrakt mikroenkapsülünde 2845 cm^{-1} ve sulu ekstrakt mikroenkapsülünde 2844 cm^{-1} 'de görülmüştür.

Spirulina'da 1639 cm^{-1} , hidroalkolik ekstrakt mikroenkapsülünde 1622 cm^{-1} ve sulu ekstrakt mikroenkapsülünde 1624 cm^{-1} 'teki güçlü ve keskin bantların, C=O gerilmesinden dolayı olduğu düşünülmüştür. Ancak nar kabuğu spektrumunda daha az keskin olan C=O gerilme piki (1716 cm^{-1} 'de) daha büyük dalga sayısında oluşmuştur.

C=O piklerine ek olarak, N-H bükülme ve C-N gerilme titreşimlerinin kombinasyonu (yaklaşık 1536 cm^{-1} 'de) proteinle ilgilidir. Benzer şekilde, lipid içeren pikler (ester karbonil grubundan gelen yan zincirin C-H gerilme titreşimi ve C=O gerilme titreşim modu) yaklaşık 1732 cm^{-1} 'de görülmüştür. Polisakkaritlerin C-O-C'sine bağlı karbohidrat absorpsiyon bantları tüm spektrumlarda yaklaşık 1149 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} , 1024 cm^{-1} 'de görülmüştür. Diğer pikler birbirine benzemektedir.

Yine aynı şekilde DSC termogramlarına bakıldığında da, elde edilen enkapsüllerin erime, kaynama veya süblimleşme noktaları gibi fiziksel hallerinde bazı değişiklikler olmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Ellagik asit, yüklü ve yüklü olmayan *Spirulina*'ların DSC termogramları

Ellagik asit termogramında, suyun yapıdan uzaklaştırılmasıyla ilgili olarak 125°C’de endotermik bir pik vardır. Ellagik asidin erime noktası 298,69°C’dir. Bu aynı zamanda endotermik piktir. İlerleyen sıcaklıklarda ise termal bozunma başlamıştır.

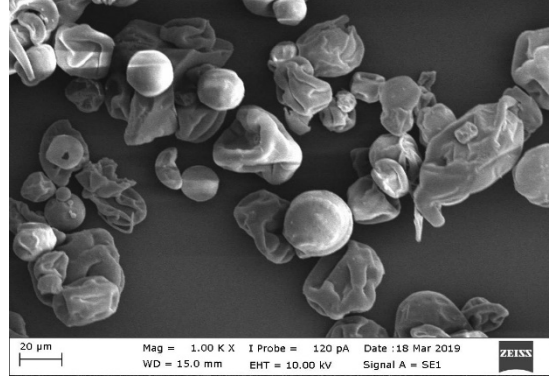
Spirulina’nın DSC termogramında iki karakteristik endotermik pik tespit edilmiştir. Bu pikler, suyun mikroalg boşluğundan atılmasından kaynaklı 82°C’de ve erime noktası dolayısıyla 235°C’de görülmüştür. Mikroalg endotermik pikleri ise ellagik asitten farklı olarak daha düşük sıcaklıklarda görülmüştür.

Ellagik asit-*Spirulina* komplekslerinin termogramlarına bakıldığında ise, su buharlaşma pikleri (hidroalkolik ekstrakt: 80°C ve sulu ekstrakt: 85°C) *Spirulina* ile benzer sıcaklıklarda görülmüştür. Erime ile ilgili endotermik pikler daha yüksek sıcaklıklarda tespit edilmiştir (hidroalkolik ekstrakt: 254,86°C ve sulu ekstrakt: 260,15°C). Termogramda 125°C’de bir endotermik pik bulunmamaktadır. Bu da ellagik asidin mikroalg hücrelerinde amorf olarak bulunduğunu düşündürmektedir. Yine ellagik asitten farklı erime sıcaklıklarının görülmesi de, ellagik asidin düzenli olarak yerleştiğini ve kompleksin mikroalg hücrelerinde oluştuğunu göstermektedir. Mikroalg hücrelerinde homojen bir oluşum olduğu anlamına gelmektedir.

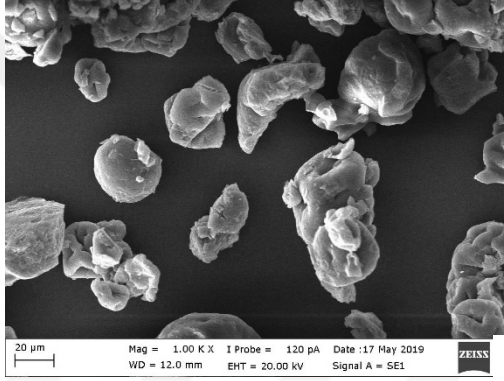
Kör ve hidroalkolik/sulu nar kabuğu ekstraktları içeren *Spirulina* mikropartiküllerin yüzey morfolojisi incelenmiş olup görüntüleri 1000x ve 2000x büyütme ile Şekil 4.9’da verilmiştir. Görüntülere bakıldığında, boş *Spirulina* ve *Spirulina* üzerine enkapsüllenmiş nar kabuğu hidroalkolik/sulu ekstraktlarının yüzeyleri arasında büyük bir fark olduğu anlaşılmıştır. Boş *Spirulina* mikropartiküllerinin 1000x büyütmeli yapılarında düz bir yüzeye sahip dairesel şekiller görülmektedir (Şekil 4.9 a). *Spirulina* üzerine enkapsüllenmiş ellagik nar kabuğu hidroalkolik/sulu ekstraktlarının her ikisinde de kapsülleme izleri benzerdir. Bu durum daha yakın çekim görüntülerinde net olarak gözlemlenmiştir.

Yüklü *Spirulina* mikropartikülleri ise pürüzlü yüzeyde olup düzensiz şekillere sahiptir. Farklı boyutlarda oluşmuş bu yapılar, şekilsizdir (Şekil 4.9 b ve 4.9 d). Aynı şekilde,

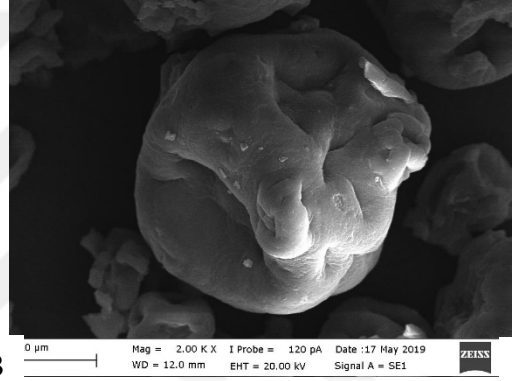
Şekil 4.9 c ve 4.9 e’de, 2000x büyütme ile görüntülenen *Spirulina* mikropartiküllerinin yüzeylerinde gözlemlenen adsorpsiyon daha yakından çok net anlaşılmıştır.



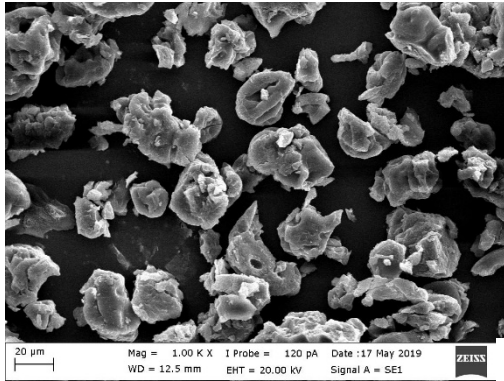
A



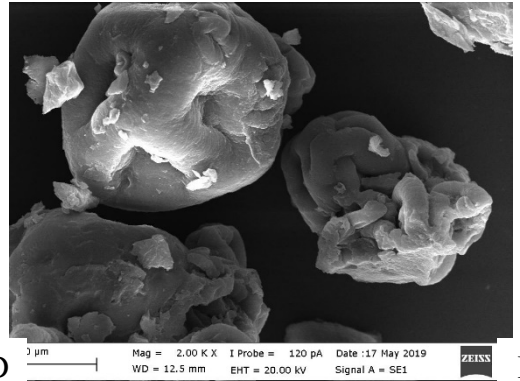
B



C



D



E

Şekil 4.9. Yüklü ve yüklü olmayan *Spirulina*’ların yüzeylerinin SEM görüntüleri **A)** Boş *Spirulina* **B)** ve **D)** *Spirulina*/hidroalkolik ve *Spirulina*/sulu ekstraktları (1000x büyütme) **C)** ve **E)** *Spirulina*/hidroalkolik ve *Spirulina*/sulu ekstraktları (2000x büyütme)

SEM, FT-IR ve DSC analizlerinin sonuçlarına bakıldığında, nar kabuğu ekstraktlarındaki ellagik asidin *Spirulina* mikroalgine mikroenkapsülasyonunun gerçekleştiği kanısına varılmıştır.

4.5. Adsorpsiyon İzoterm Çalışmaları

Langmuir izoterminde yüzeyde adsorbe edilmiş moleküller aynı adsorpsiyon enerjisine sahiptirler. Dolayısıyla homojen bir yapıda olduklarından yüzeydeki moleküller birbiriyle etkileşmezler. Öte yandan, Freundlich izotermelerinde ise adsorpsiyon heterojen yüzeylerde olmaktadır. Yani adsorban yüzeyinde farklı enerjiye sahip bölgeler bulunmaktadır.

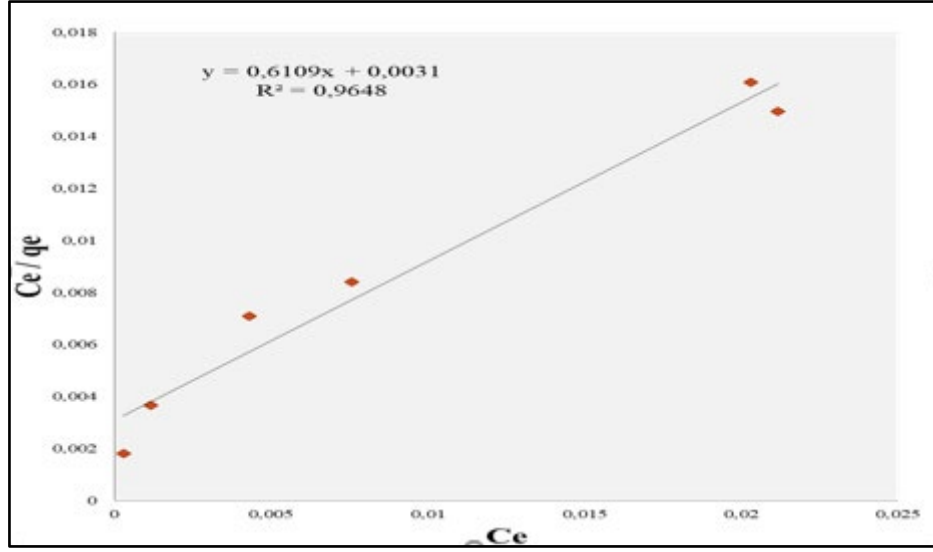
Ellagik asidin mikroalg yüzeyine adsorpsiyonunun dengesi kurulduktan sonra, çözelti fazında adsorbe edilen maddenin sabit konsantrasyonu belirlenmiş ve hidroalkolik/sulu ekstrakt deneylerinden elde edilen verilerle Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri üzerinden izoterm grafikleri çıkartılmıştır (Şekil 4.10). Ayrıca Langmuir ve Freundlich izoterm modellerinin parametrelerine ait bilgiler de aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Langmuir ve Freundlich izoterm model parametreleri

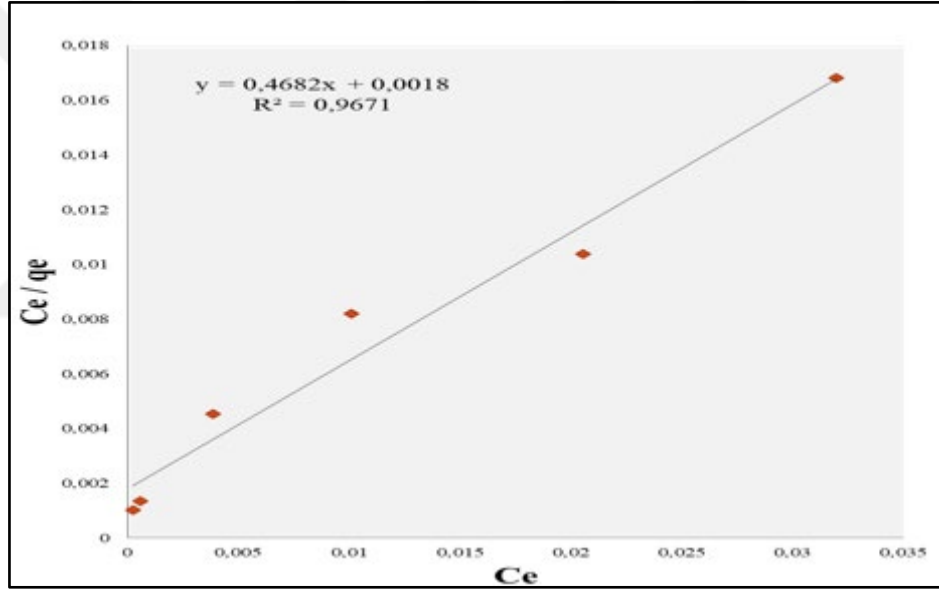
	Langmuir izotermi sabitleri			Freundlich izotermi sabitleri		
	q_m (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2	n	K_f (mg/g)(mL/mg) ^{1/n}	R^2
Hidroalkolik ekstrakt	2,14	260,09	0,9671	2,31	9,41	0,9824
Sulu ekstrakt	1,64	197,06	0,9648	1,99	9,64	0,9961

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.10'daki sonuçlara göre, ellagik asidin mikroalg yüzeyine adsorpsiyonu, Freundlich izoterm denkleminde daha yüksek bir korelasyon değeri vermiştir (0,98'den büyüktür).

Langmuir izoterm denklemi için R^2 hidroalkolik ekstraktta 0,9671 ve sulu ekstraktta 0,9648'dir. Adsorpsiyon bölgelerinin homojenliğini yansıtan Langmuir modelinin korelasyonu daha düşük olmuştur. Bu korelasyon katsayısı *Spirulina* mikroalg yüzeyindeki heterojenez fonksiyonel gruplarına işaret eder, bu nedenle heterojen adsorpsiyon olduğu düşünülmüştür.

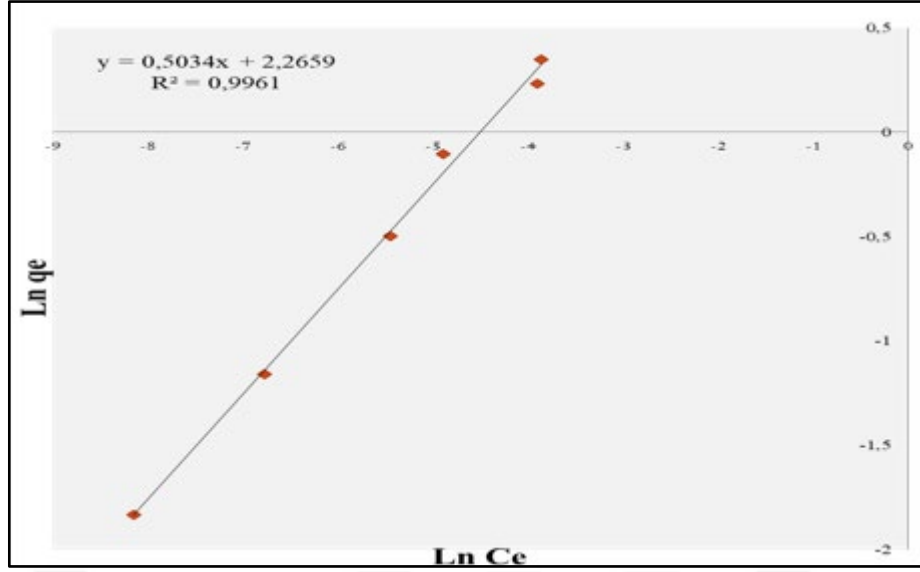


A

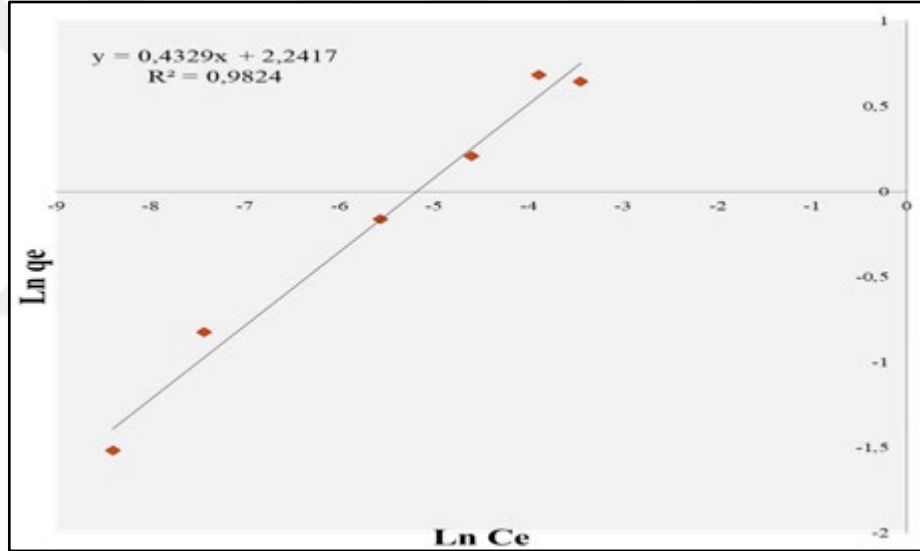


B

Şekil 4.10. Adsorpsiyon izotermi grafikleri A) Sulu ekstrakt-Langmuir izotermi B) Hidroalkolik ekstrakt-Langmuir izotermi



C



D

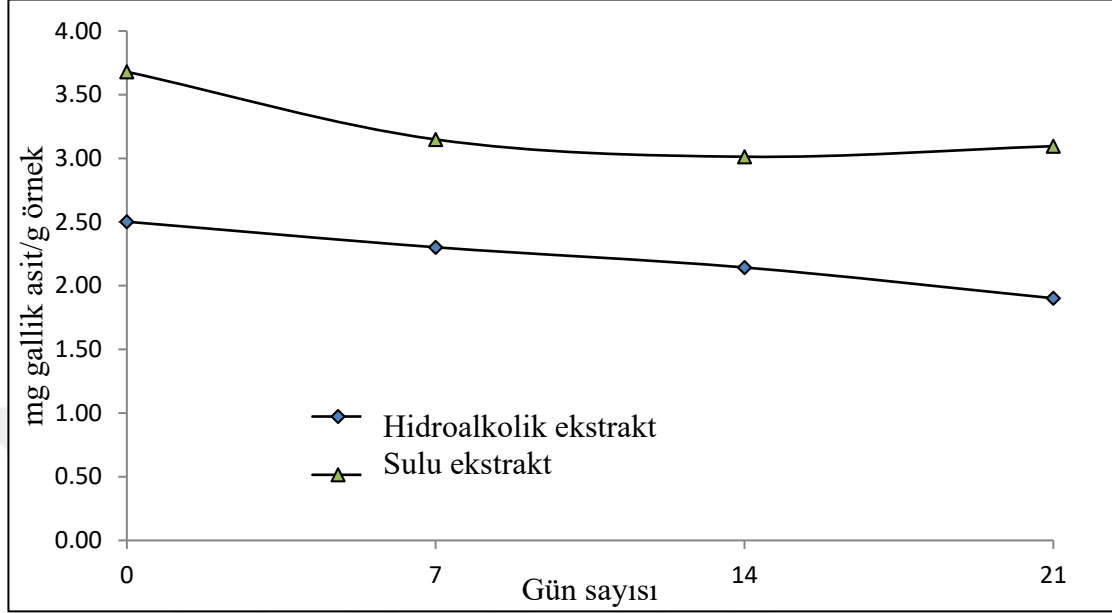
Şekil 4.10. Adsorpsiyon izotermi grafikleri (devam) C) Sulu ekstrakt-Freundlich izotermi D) Hidroalkolik ekstrakt-Freundlich izotermi

Sonuç olarak, mikroalg üzerinde enkapsüle edilen ellagik asit miktarları değerleri ile çizilen adsorpsiyon izotermelerinde Freundlich izoterm modeli daha uygun bulunmuştur.

4.6. Fotokimyasal Kararlılık Çalışmaları

Spirulina yüzeyinde tutunan ve dış etkenlere karşı korunan aktif bileşen ellagik asidin miktarı sıfırıncı günde %100 olarak kabul edilerek 7 günlük aralıklarla ölçüm yapılmıştır. Şekil 4.11'de görüldüğü gibi yüzeydeki ellagik asit miktarı her iki tür

ekstraktta da gün geçtikçe çok yavaş azalmıştır. Buradan, mikrokapsülasyon yönteminin ellagik asidin kararlılığını korumak ideal olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.11. Enkapsüle edilen antioksidan maddenin fotokimyasal kararlılığı

Bununla birlikte, Çizelge 4.9’da da gösterildiği gibi, sulu ekstraktlı mikroalgin yüzeyinde kalan ellagik asit miktarı hidroalkolik ekstraktlı olandan daha fazla olmuştur. Yani, sulu ekstrakt ile mikrokapsülleme yapıldığında ellagik asit daha kararlı olmuştur.

Çizelge 4.9. Ellagik asidin mikroalg-nar kabuğu ekstraktlarındaki kararlılığı

	Depolama Süresi (Gün)			
	0	7	14	21
Hidroalkolik ekstrakt	100	98,86 ± 0,05	96,41 ± 0,06	93,92 ± 5,92
Sulu ekstrakt	100	99,47 ± 0,25	99,06 ± 0,03	94,63 ± 3,30

4.7. Optimizasyon Çalışmaları

Bölüm 3.2.7’de verilen denklem 3.4’te gösterildiği gibi ikinci dereceden polinom modeli elde etmek için bağımsız değişkenlerin ve yanıt değişkenlerinin ilgili verileri analiz edilmiştir. Faktörlerin Box Behnken tasarımı ve 17 deney için deneysel ve tahmin edilen ellagik asit (mg) miktarları Çizelge 4.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Box-Behnken tasarımı

Deney	Faktörler			Enkapsüllenen ellagik asit miktarları (mg)	
	x_1 Sıcaklık(°C)	x_2 Enkapsülleme süresi (dk)	x_3 Ekstrakt/Mikroalg (mL/g)	Deneyssel	Tahmini
1	25	30	2	9,64	9,99
2	45	30	2	7,31	7,69
3	25	180	2	9,82	9,43
4	45	180	2	4,29	3,95
5	25	105	1	5,28	5,21
6	45	105	1	2,63	2,52
7	25	105	3	12,31	12,42
8	45	105	3	7,27	7,34
9	35	30	1	4,79	4,52
10	35	180	1	3,63	4,08
11	35	30	3	12,69	12,24
12	35	180	3	8,10	8,38
13	35	105	2	7,32	7,08
14	35	105	2	7,52	7,08
15	35	105	2	7,10	7,08
16	35	105	2	6,87	7,08
17	35	105	2	6,61	7,08

Yukarıda da görüldüğü gibi, deneysel ve tahmin edilen değerler arasında yakın bir ilişki söz konusudur. Bu, geliştirilen modelin kabul edilebilir bir yanıtı anlamına gelmektedir. 17 deneyden, deney 7 (25°C sıcaklık, 105 dk enkapsülleme süresi, 3 mL/g ekstrakt/mikroalg oranı) ve deney 11 (35°C sıcaklık, 30 dk enkapsülleme süresi, 3 mL/g ekstrakt/mikroalg oranı) iki maksimum miktarda ellagik asit üretmiştir (sırasıyla 12,31 ve 12,69 mg). En düşük ellagik asit miktarı (2,63 mg) deney 6'da (45°C sıcaklık, 105 dk enkapsülleme süresi, 1 mL/g ekstrakt/mikroalg oranı) gözlemlenmiştir. *Spirulina*'da enkapsüllenen ellagik asidin optimizasyonu için enkapsülleme sıcaklığı ile ekstrakt/mikroalg oranı arasında ters bir ilişki tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11 ise, ellagik asit enkapsülasyonunun optimizasyonu için uygulanan ikinci dereceden polinom modeli için ANOVA'nın sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.11. Enkapsülasyon optimizasyonu için ANOVA analizi

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Alan karesi	F-değeri	p değeri Prob>F
Model	120.38	9	13.38	57.51	< 0.0001 ^a
x_1	30.20	1	30.20	129.85	< 0.0001 ^a
x_2	9.21	1	9.21	39.62	0.0004 ^a
x_3	72.28	1	72.28	310.74	< 0.0001 ^a
x_1x_2	2.54	1	2.54	10.94	0.0130 ^a
x_1x_3	1.42	1	1.42	6.10	0.0428 ^a
x_2x_3	2.94	1	2.94	12.62	0.0093 ^a
x_1^2	0.066	1	0.066	0.29	0.6099 ^b
x_2^2	1.31	1	1.31	5.64	0.0493 ^a
x_3^2	0.48	1	0.48	2.04	0.1960 ^b
Residual	1.63	7	0.23		
Lack of fit	1.11	3	0.37	2.88	0.1666 ^b
Gerçek hata	0.52	4	0.13		
Cor total	122.01	16			
$R^2 = 0.9867$					

^a“Prob>F” de 0.05’ten küçük ise anlamlı.

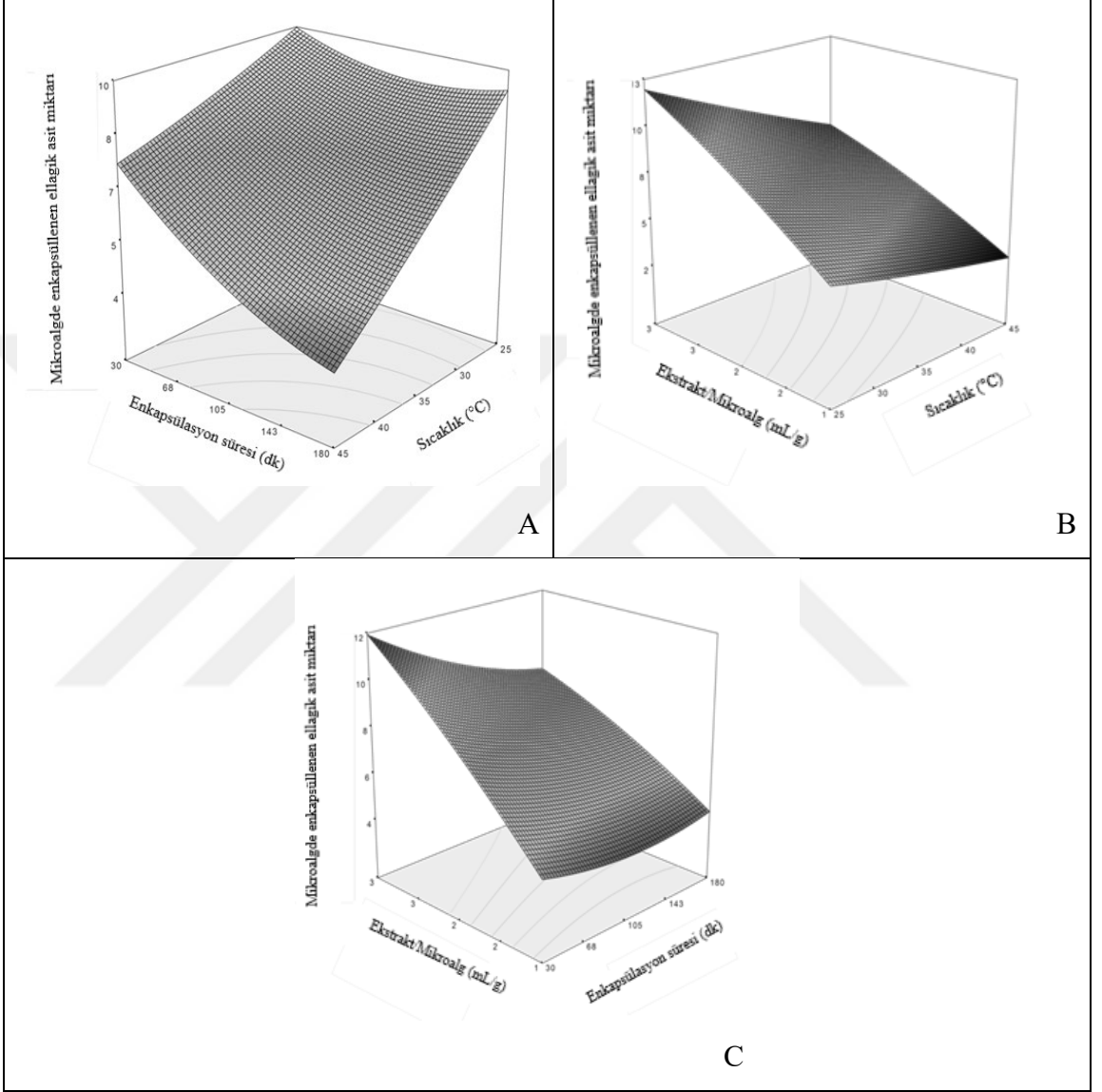
^b“Prob>F” de 0.05’ten büyük ise anlamsız.

Bu sonuçlara göre, “Prob>F” değerlerinin 0.0500’dan küçük olması nedeniyle model oldukça anlamlı çıkmıştır. Yalnızca x_1^2 (0.6099) ve x_3^2 (0.1960) modelleri 0.1000’den büyüktür, dolayısıyla anlamlı değildir. 2.88’lik “Lack-of-Fit F-değeri”, uyum eksikliğinin gerçek hataya göre önemli olmadığı anlamına gelmektedir. Gürültü nedeniyle bu kadar büyük bir “Lack-of-Fit F-değeri” nin oluşma olasılığı %16.66’dır. Bu nedenle, önemsiz olan bu Lack-of-Fit değeri iyi bir sonuç olarak kabul edilmiştir ve bu model, enkapsülasyon koşullarının optimizasyonuna uygulanabilir. Ayrıca, gerçek hatanın değerinin düşük olması, verilerin iyi bir şekilde tekrarlanabilirliğini göstermiştir. “ R^2 değeri” (0.9867) de modelin verilerimizdeki toplam varyansı açıklamada ne kadar iyi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, 4’ten büyük olması istenen model uygunluk kesinlik oranı (26.758) da uygun bir sinyali göstermiştir.

Denklem 4.1’de görüldüğü gibi, daha önce belirtilen ikinci dereceden polinom Denklem 3.4’e göre hesaplanan mikroalgde enkapsüllenen ellagik asit miktarının tahmin edilen yanıtının sonuçları aşağıdaki gibidir:

$$y = -1,94 x_1 - 1,07 x_2 + 3,01 x_3 - 0,80 x_1 x_2 - 0,60 x_1 x_3 - 0,86 x_2 x_3 + 0,56 x_2^2 \quad (4.1)$$

Mikroalg enkapsülasyonunun parametreleri ve enkapsüllenen ellagik asit miktarı arasındaki etkileşimleri tanımlamak için yanıt yüzeyinin üç boyutlu görüntüleri de üretilmiştir. Şekil 4.12, yanıt yüzeyi grafiklerini göstermektedir.



Şekil 4.12. Yanıt yüzeyi grafikleri. Toplam fenolik içerik üzerindeki (A) enkapsülleme süresi ve sıcaklığın (B) ekstrakt/mikroalg oranı ve sıcaklığın (C) ekstrakt/mikroalg oranı ve enkapsülleme süresinin etkisini gösterir.

Yanıt grafiğinden (Şekil 4.12 a), hem sıcaklık hem de enkapsülleme süresi azaldığında, mikroalg yüzeyinde enkapsüllenen ellagik asit miktarının önemli ölçüde arttığı ve iki değişkenin enkapsüllenen ellagik asidin yanıtı üzerinde ters etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Şekil 4.12 b’de de görüldüğü gibi sıcaklık 45°C’den 25°C’ye

düşürüldüğünde ve ekstrakt/mikroalg oranı yüksek tutulduğunda (3'e yakın), enkapsüllenen ellagik asit miktarı da yüksek bulunmuştur. Şekil 4.12 c'ye bakıldığında ise, ekstrakt/mikroalg oranındaki artış ve enkapsülleme süresindeki düşüşle (180 dk'dan 30 dk'ya), yine artan miktarda ellagik asit gözlemlenmiştir.

Referans indeks olan mikroalgde enkapsüllenen ellagik asit miktarına göre, RSM analizi ile elde edilen optimum koşullar aşağıdaki gibidir:

Sıcaklık	29°C
Enkapsülleme süresi	35 dk
Ekstrakt/mikroalg oranı	2,93 mL/g

Bu optimum koşullar altında mikroalgde enkapsüllenen toplam teorik ellagik asit miktarı, 2,5 g alg materyalinde 13,0016 mg olmuştur. Elde ettiğimiz deneysel sonuç ise $13,39 \pm 0,18$ mg'dır. Bu sonuçlar birbiriyle uyumludur.

Sonuç olarak, Box-Behnken tasarımı (BBD) ile birleştirilmiş yüzey analiz yöntemi (RSM) mikroenkapsülasyon prosedürünü optimize etmek için başarıyla kullanılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı, enkapsülleme süresi ve ekstrakt/mikroalg oranındaki değişimlerin, mikroalgde enkapsüllenen ellagik asit miktarı üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkileri olduğu gözlemlenmiştir. Bu faktörlerin optimum koşulları, mikroalgde enkapsüllenen en yüksek toplam ellagik asit miktarını elde etmek için belirlenmiştir. Sonuçlara göre optimum koşullar 29°C sıcaklık, 35 dk enkapsülleme süresi ve 2,93 mL/g ekstrakt/mikroalg oranıdır.

4.8. Simüle Edilen Gastrointestinal Koşullar Altında Kontrollü Salınım Çalışmaları

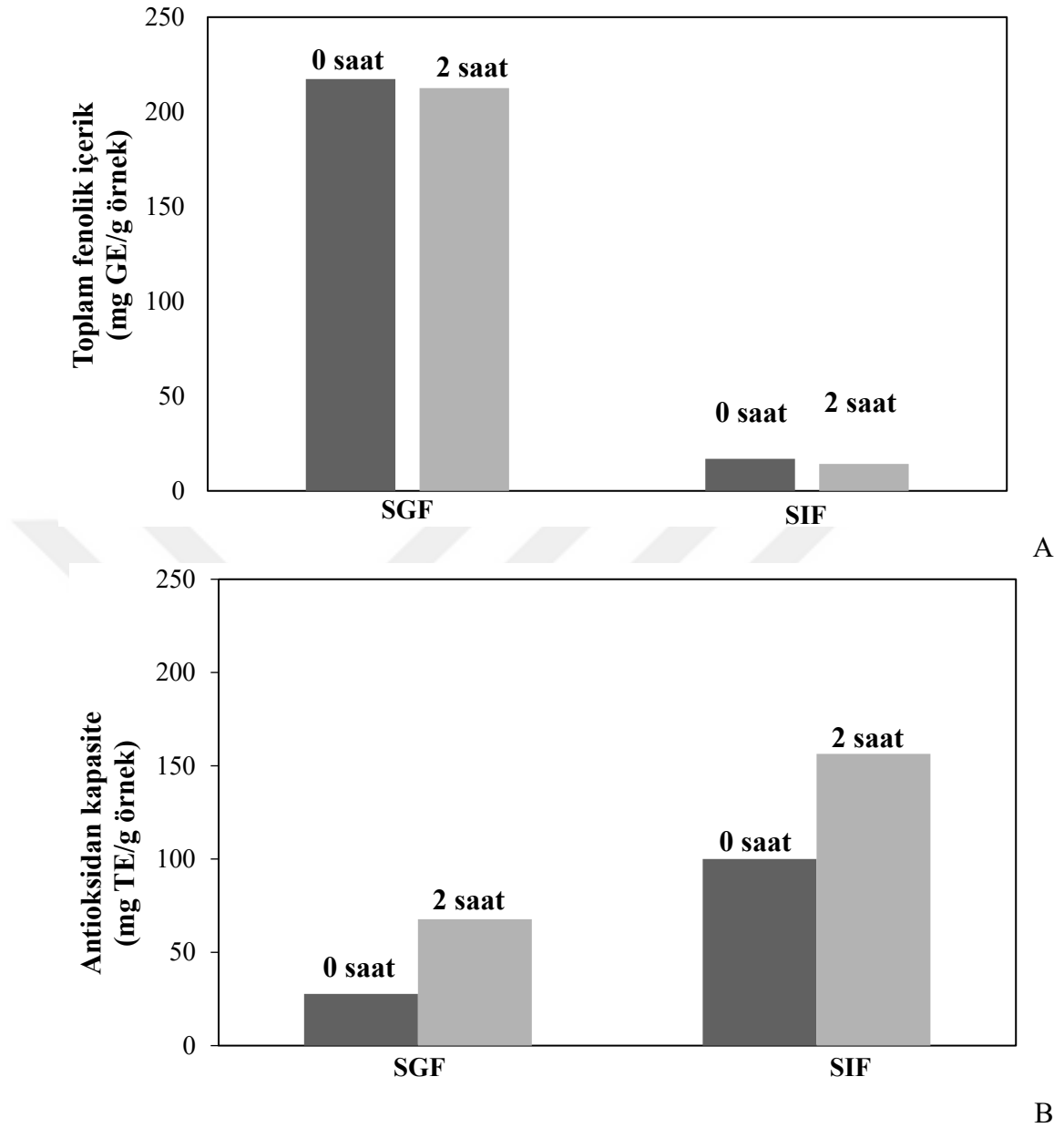
Enkapsüllenen ellagik asidin yapısal özelliklerini ve salınım kinetiğini değerlendirmek için, *in vitro* sindirimi ve salınımı, mide ve bağırsak sıvılarının simülasyonu ile incelenmiştir. Ellagik asidin salınım davranışı 120 dk boyunca incelenmiştir. Optimum koşullar altında elde ettiğimiz mikroalgde enkapsüllenen ellagik asit deneysel sonuç

miktarı, 2,5 g mikroalgde $13,39 \pm 0,18$ mg'dır. Simüle edilmiş gastrointestinal sindirim çalışması için 50 mg enkapsüllenen mikroalg kullandığımızdan, mikroalgdeki enkapsüllenmiş ellagik asidin başlangıç miktarı, sindirimden önce 0,268 mg'dır. 120 dk'lık sindirimden sonra HPLC ile belirlenen çözelti ortamına salınan ellagik asit miktarı, SGF içinde 0,017 mg ve SIF içinde 0,050 mg olarak belirlenmiştir.

Ellagitanninler asidik ortamın SGF koşulları altında kararlıdır, ancak SIF koşulları altında ellagik aside bozunabilirler (Karaş ve diğerleri, 2017). Nar kabuğu ekstraktının ellagitannin içerdiği bilinmektedir, ancak kontrollü salınım çalışmaları esnasında bir ellagitannin standardı temin edilemediğinden ekstrakttaki ellagitannin miktarı belirlenememiştir. Nar kabuğu ekstraktında ellagitannin bulunduğu için *Spirulina*'da enkapsüllenmiştir. Bu nedenle, *in vitro* sindirimde optimum şekilde enkapsüllenmiş ellagik asidin salınımı için, SIF'de SGF'den daha yüksek bir salınım oranı göstermiştir.

Şekil 4.12, 120 dk boyunca *in vitro* sindirimden sonra salınan çözeltinin toplam fenolik içeriklerini ve antioksidan kapasitelerini göstermektedir. Şekil 4.12 a'da gösterilen sonuçlara bakılacak olunursa, simüle edilmiş mide sindiriminden sonra *Spirulina*/ellagik asidin toplam fenolik içeriği $212,55 \pm 4,50$ mg GAE/g liyofilize alg iken, başlangıçtaki toplam fenolik içeriği $217,33 \pm 41,78$ GAE/g liyofilize alg'dir. Dag ve diğerleri (2017) de yaptıkları çalışmada SGF koşullarında benzer bir düşüş gözlemlemiştir.

Benzer şekilde, bağırsak sindiriminden sonra *Spirulina*/ellagik asidin toplam fenolik içeriği $14,25 \pm 1,01$ mg GAE/g liyofilize alg iken, başlangıçtaki toplam fenolik içeriği $16,92 \pm 0,72$ mg GAE/g liyofilize alg'dir. Mikroalgden fenolik içeriğin 120 dk sonra salınımı, SGF'de (pH 1,2), SIF'den (pH 6,8) daha yüksektir. 120 dk'lık bağırsak sindiriminden sonra toplam fenolik içerikteki küçük düşüş, fenolik bileşiklerin alkali ortamda (pH 6,8) yavaş salınımı ile açıklanabilir. Buna karşılık, SIF koşulundaki enkapsülün fenolik içeriği, SGF koşulundan daha yüksektir. Bu, fenolik bileşiklerin salınımının SGF'deki asidik ortamdan etkilendiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 4.12. Enkapsüllenen ellagik asidin *in vitro* sindirimde salınımı (A) Toplam fenolik içerikleri ve (B) Antioksidan kapasiteleri

Yine benzer bir sonuca, Dag ve diğerleri (2017) çalışmalarında yer vermişlerdir. Buna göre, maltodekstrin ve maltodekstrin/arap zamkı (9:1) gibi kaplama malzemeleri için gözlemlenen SGF koşullarında SIF koşullarındakinden daha yüksek bir fenolik salınım gözlemlenmiştir. Şekil 4.12 b'ye göre, gastrik sindirimden sonra antioksidan kapasite $27,69 \pm 4,03$ mg TE/g liyofilize alg'den $67,79 \pm 0,49$ mg TE/g liyofilize alg'e yükselmiştir. Benzer şekilde, bağırsak sindiriminden sonra $100,04$ mg TE/g liyofilize alg'den $156,38$ mg TE/g liyofilize alg'e kadar antioksidan kapasitede bir artış elde

edilmiştir. En yüksek toplam fenolik içerik mide sindiriminden sonra belirlendiğinden, salınan çözeltinin antioksidan kapasitesi bağırsak sindiriminden sonra en yüksek olmuştur (Şekil 4.12 b). Yine, belirlenemeyen ellagik asit türevleri de, salınan çözeltinin toplam fenolik içeriğine ve antioksidan kapasitesine katkıda bulunur.

Flores ve diğerleri (2014) ise çalışmalarında, arap zıkkı ve peynir altı suyu proteini izolatlarından antosiyaninlerin salınımını karşılaştırmışlardır. SGF analizinde arap zıkkı ve peynir altı suyu proteini izolatlarından salınan çözeltilerin toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan kapasitesinin arttığını, ancak SIF analizinde sadece peynir altı suyundan salınan çözeltinin toplam fenolik içerikte ve antioksidan aktivitesinde artış olduğunu ve arap zıkkından salınan çözeltinininkinde ise azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Sonuç olarak, peynir altı suyu proteininin çalışmaları için uygun bir kapsülleyici olduğuna karar vermişlerdir (Flores ve diğerleri, 2014).

Başka bir *in vitro* gastrointestinal çalışmada, sonuçlar tam tersi olmuştur. Enkapsüllenmiş *Averrhoa carambola* posası ekstraktından polifenollerin salınımının mide sıvısında bağırsak sıvısından daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Saikia ve diğerleri, 2015).

In vitro sindirime katılan fenolik bileşiklerin kararlılığı üzerine yaptığı çalışmalarda, tespit edilen fenolik bileşiklerin çoğu kararlı değildir (Saura-Calixto ve diğerleri, 2007; Siracusa ve diğerleri, 2011). Uygulanan kaplama malzemesinin doğası ile ilişkilendirilmiştir. Enkapsüllenen bileşiklerin *in vitro* sindirim sırasındaki davranışı, sindirim enzimlerine karşı dirençleri, bileşiklerin yerleştirildiği kaplama malzemesinin bileşimi ve gastrointestinal sistemdeki pH koşulları ile ilgilidir.

Sonuç olarak, kaplama malzemesinin davranışı ve fenolik bileşiğin kararlılığı nedeniyle antioksidan kapasite ve toplam fenolik içerik değişebilir.

4.9. Yoğurt Üretimi

Şekil 3.2'deki endüstriyel yoğurt üretimine ait akış şemasına göre kültür grubu için önerilen inkübasyon sıcaklığına soğutulmuş 6 farklı süt, %3 oranında starter kültür ile aşılanmıştır. Steril karıştırıcılarla karıştırılarak 100 mL'lik steril plastik kaplara aktarıldıktan sonra 42°C'de inkübasyona tabi tutulmuşlardır. İnkübatöre konulan yoğurtların önce 1'er saat, sonra yarım saat aralıklarla pH kontrolleri yapılmıştır. Bu aşamada eklenen tüm katkı maddeleri inkübasyon sürelerinde farklılıklar meydana getirmiştir. pH ~4,6-4,7'ye gelen örnekler inkübatörden çıkarılmış ve oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek buzdolabına (+4°C) alınmış ve burada 21 gün boyunca depolanmak üzere saklanmıştır.

Çizelge 4.12. Yoğurtların üretim aşamasındaki inkübasyon süreleri

Örnek Çeşidi	İnkübasyon Süresi
YC	2 saat 20 dk
YM	2 saat 5 dk
YNS	2 saat 13 dk
YNSE	1 saat 25 dk
YNH	1 saat 25 dk
YNHE	1 saat

Tüm yoğurtların inkübasyon süreleri Çizelge 4.12'de verilmiştir. Literatürde *Spirulina* eklenmiş yoğurtlarda fermentasyonun hızlandığına dair bilgiler mevcuttur (Barkallah ve diğerleri, 2017).

Burada da mikroalgin eklendiği yoğurtlarda inkübasyon süresinin kısaldığı tespit edilmiş; bu durumun literatürle uyumlu olduğu düşünülmüştür. Yine aynı şekilde hidroalkolik ekstraktın katıldığı YNH kodlu yoğurt örneğinde de fermentasyon süresi azalmıştır.

4.10. Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik, Spektroskopik, Duyusal/Tekstür ve İstatistiksel Analizler

Çiğ Sütte Yapılan Analizler

Çiğ sütün işleme alınmadan önce fizikokimyasal analizleri yapılmıştır. Yoğurt üretiminde kullanılan çiğ sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 4.12’de verilmiştir. Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği (Tebliğ No: 2019/12)’ne göre çiğ inek sütünün protein miktarı en az %2,9, tam yağlı sınıfı için yağ miktarı en az %3,5, yağsız kuru madde miktarı ise en az %8,0 olmalıdır. Laktik asit cinsinden titrasyon asitliği ise %0,135-0,200 aralığında olmalıdır. Üretimde kullanılan çiğ sütün fizikokimyasal özellikleri tebliğdeki değerlerle uyumludur (Çizelge 4.13).

Çiğ inek sütünün toplam canlı bakteri sayısı ise TS 1018/Nisan 2002’ye göre 30°C’de kob/mL olarak en çok 10^5 kob/mL olmalıdır. Üretimde kullanılan çiğ sütün toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 1.0×10^4 kob/mL olarak saptanmıştır (ISO 4833-1 Yöntemi). Buna göre çiğ süt kullanıma uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Çiğ sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri

ÇİĞ SÜT	Kuru madde	Süt Yağsız Kuru madde	Süt yağı	Protein	pH	Titrasyon Asitliği
	13,04±0,68	8,94±0,22	4,1±0,21	3,36±0,21	6,50	0,17±0,01

Süt tozunda Yapılan Analizler

Süt tozunun işleme alınmadan önce kimyasal analizleri yapılmıştır. Üretimde kullanılan yağsız süt tozunun bazı kimyasal özellikleri 100 g üzerinden Çizelge 4.14’te verilmiştir. Yağlı süt tozu yoğurtta okside aroma geliştirebildiğinden yağsız süt tozu tercih edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süt tozu Tebliği (Tebliğ No: 2005/18)’ne göre yağsız süt tozunun yağ miktarı en çok %1,5 olmalıdır. Buna göre üretimde kullanılan yağsız süt tozunun değeri tebliğdeki değerle uyumludur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Yağsız süt tozunun bazı özellikleri

YAĞSIZ SÜT TOZU	Süt Yağı	Protein	Laktoz
	0,20	33	54,20

Yoğurtta Yapılan Analizler

Yoğurt üretiminde sütün kuru maddesinin artırılması ile sütün su bağlama kapasitesinin arttığı yani yoğurt pıhtısının sıkılığının arttığı bilinmektedir (Lucey, 2002). Hatta yapılan bir çalışmada %10'dan %15'e çıkartılan sütün kuru madde yüzdesi ile bu artış 2 kat olmuştur (Harwalkar ve Kalab, 1986). Aynı zamanda istenen fiziksel ve duysal özelliklere sahip yoğurt eldesi için de bu işlem gereklidir. Bu amaçla yoğurt üretiminde 30°C'ye getirilen süte %3 oranında süt tozu eklenmiştir. %3-4'ü geçen oranlarda yoğurtta pütürlülük görülebilmektedir.

Yoğurt üretim prosesinde geleneksel yöntemle üretilen yoğurdun geliştirilmesi ve fonksiyonel özellik katmak amacıyla homojenize edilmiş çiğ süt kullanılarak biri kontrol olmak üzere 6 farklı yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. Deneme yoğurtlarının fizikokimyasal, mikrobiyolojik, spektroskopik, duysal vb. özellikleri depolama süresi boyunca takip edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki çizelgelerde ayrı ayrı verilmiştir.

Yoğurt üretim prosesinde süte eklenen farklı katkı maddelerinin kimyasal kompozisyonları birbirinden farklıdır. Dolayısıyla elde edilen son ürün olan yoğurdun fiziksel ve duysal özelliklerinde farklılıklar olabilmektedir (Özer, 2006).

Yaygın (1999) kuru madde miktarının fermente süt ürünü olan yoğurdun bileşimi, besin değeri, aroması, raf ömrü ve yoğurt bakterilerinin aktivitesi üzerinde etkili olduğunu belirtmiştir. Üretilen 6 farklı yoğurt örneğinin kuru madde değerlerinde depolama boyunca dalgalanmalar gözlemlenmiştir. Bu durumun örneklerin analize alınmadan tam anlamıyla homojenize edilememesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.15. Yoğurtlarda yapılan fizikokimyasal analizlerin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Kuru madde(%)	Yağ(%)	Süt Yağsız Kuru madde(%)	pH	Titre edilebilir Asitlik(%LA)	Kül(%)	Toplam Protein(%)	Laktoz(%)
YC	1.	18,10±0,95	5,14±0,25	12,96±0,98	4,20±0,01	1,21±0,01	1,13±0,01	4,72±0,30	5,28±0,26
	7.	18,44±0,96	5,03±0,24	13,41±0,99	4,03±0,01	1,35±0,01	1,13±0,01	4,85±0,31	5,86±0,29
	14.	16,15±0,84	5,03±0,24	11,12±0,88	4,07±0,01	1,68±0,01	1,10±0,01	5,09±0,32	5,62±0,27
	21.	16,63±0,87	4,26±0,21	12,37±0,89	3,99±0,01	1,58±0,01	1,04±0,01	4,61±0,29	6,36±0,31
YM	1.	17,73±0,93	3,60±0,17	14,13±0,94	4,30±0,01	1,40±0,01	1,20±0,01	5,48±0,35	6,29±0,31
	7.	17,29±0,11	3,60±0,17	13,69±0,92	3,95±0,01	1,63±0,01	1,18±0,01	5,30±0,33	5,86±0,29
	14.	17,81±0,93	4,04±0,20	13,77±0,95	3,93±0,01	1,83±0,01	1,17±0,01	5,46±0,35	5,78±0,28
	21.	18,38±0,96	3,60±0,17	14,78±0,98	3,89±0,01	1,77±0,01	1,13±0,01	5,16±0,33	6,47±0,32
YNS	1.	16,92±0,88	3,71±0,18	13,21±0,90	4,22±0,01	1,21±0,01	1,14±0,01	4,88±0,31	5,96±0,29
	7.	17,21±0,11	3,71±0,18	13,50±0,92	4,05±0,01	1,54±0,01	1,17±0,01	4,65±0,30	6,07±0,30
	14.	16,78±0,88	3,93±0,19	12,85±0,90	3,97±0,01	1,79±0,01	1,11±0,01	4,92±0,31	6,14±0,30
	21.	17,24±0,90	3,49±0,17	13,75±0,92	3,97±0,01	1,52±0,01	1,01±0,01	4,79±0,31	6,29±0,31
YNSE	1.	16,29±0,85	3,82±0,19	12,47±0,87	4,22±0,01	1,17±0,01	1,03±0,01	4,68±0,30	5,70±0,28
	7.	16,13±0,84	4,04±0,20	12,09±0,87	4,09±0,01	1,40±0,01	1,02±0,01	4,55±0,29	5,27±0,26
	14.	16,32±0,85	3,93±0,19	12,39±0,87	3,90±0,01	1,67±0,01	1,01±0,01	4,85±0,31	5,12±0,25
	21.	17,26±0,90	3,82±0,19	13,44±0,92	3,86±0,01	1,55±0,01	0,99±0,01	4,77±0,30	5,65±0,28
YNH	1.	15,68±0,82	4,04±0,20	11,64±0,84	4,15±0,01	1,20±0,01	1,03±0,04	4,42±0,28	5,47±0,27
	7.	15,63±0,82	3,93±0,19	11,70±0,84	4,01±0,01	1,41±0,01	0,98±0,01	4,34±0,28	5,58±0,27
	14.	15,69±0,82	3,60±0,17	12,09±0,84	3,95±0,01	1,58±0,01	0,96±0,01	4,53±0,29	5,62±0,27
	21.	16,02±0,84	3,93±0,19	12,09±0,86	3,92±0,01	1,49±0,01	0,89±0,01	3,96±0,25	5,80±0,28
YNHE	1.	16,71±0,87	3,93±0,19	12,78±0,89	4,25±0,01	1,31±0,01	1,03±0,01	4,79±0,31	5,43±0,27
	7.	15,93±0,83	3,71±0,18	12,22±0,85	4,04±0,01	1,40±0,01	0,94±0,01	4,34±0,28	5,09±0,25
	14.	16,13±0,84	3,71±0,18	12,42±0,86	3,90±0,01	1,73±0,01	0,93±0,01	4,94±0,31	5,49±0,27
	21.	16,26±0,85	3,71±0,18	12,55±0,87	3,92±0,01	1,46±0,01	0,83±0,01	4,78±0,30	5,08±0,25

Yoğurtlarda depolamanın 1. gününde ortalama kuru madde değeri %16,91 iken 21. gününde %16,97 olmuştur (Çizelge 4.16). Depolama boyunca kuru madde değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). Kontrol ve %1 *Spirulina*'lı yoğurtların ortalama değerleri sırasıyla %17,33 ve %17,79'dur. Bu sonuçlara göre iki örnek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Yoğurtların % kuru madde değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Kuru madde (%) (%95 k=2)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	18,10±0,95 ^{aA}	18,44±0,96 ^{aA}	16,15±0,84 ^{dB}	16,63±0,87 ^{cB}
YM	17,73±0,93 ^{aBC}	17,29±0,11 ^{bC}	17,81±0,93 ^{aB}	18,38±0,96 ^{aA}
YNS	16,92±0,88 ^{bAB}	17,21±0,11 ^{bA}	16,78±0,88 ^{bB}	17,24±0,90 ^{bA}
YNSE	16,29±0,85 ^{cB}	16,13±0,84 ^{cB}	16,32±0,85 ^{cB}	17,26±0,90 ^{bA}
YNH	15,68±0,82 ^{dA}	15,63±0,82 ^{dA}	15,69±0,82 ^{eA}	16,02±0,84 ^{dA}
YNHE	16,71±0,87 ^{bcA}	15,93±0,83 ^{cdB}	16,13±0,84 ^{dB}	16,26±0,85 ^{cdB}
En küçük	15,68±0,82	15,63±0,82	15,69±0,82	16,02±0,84
En Büyük	18,10±0,95	18,44±0,96	17,81±0,93	18,38±0,96
Ortalama	16,91±0,88	16,77±0,61	16,48±0,86	16,97±0,89

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yağ analizi sürecinde yoğurtların homojenizasyonu çok önemli bir basamaktır. Homojen hale getirilen yoğurtlardaki yağ globül çapları küçülür ve yağ oranı sonuçları daha yüksek bulunur. Depolama süresi boyunca yağ miktarları çok değişmemekle birlikte homojenizasyonun tam olarak yapılamamasından dolayı yağ sonuçlarında dalgalanmalar gözlemlenmiştir. En yüksek yağ değerleri YC kodlu kontrol yoğurdunda görülmüştür (Çizelge 4.17).

Yoğurtların depolama boyunca yağ değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). Çizelgede 4.24'te de görüldüğü üzere, depolama süresi uzadığında % süt yağı bileşiminde büyük farklılık gözlemlenmemiştir. Depolamanın 1. gününe ait örneklerin ortalama yağ değeri %4,04 iken, 21. gününde bu değer 3,80 bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Yoğurtların % yağ değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Yağ (%) (%95 k=2)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	5,14±0,25 ^{aA}	5,03±0,24 ^{aB}	5,03±0,24 ^{aB}	4,29±0,21 ^{aC}
YM	3,60±0,17 ^{fB}	3,60±0,17 ^{fB}	4,04±0,20 ^{bA}	3,63±0,17 ^{eB}
YNS	3,71±0,18 ^{eB}	3,71±0,18 ^{eB}	3,93±0,19 ^{fA}	3,52±0,17 ^{fC}
YNSE	3,82±0,19 ^{dC}	4,04±0,20 ^{bA}	3,93±0,19 ^{dB}	3,85±0,19 ^{cC}
YNH	4,04±0,20 ^{bA}	3,93±0,19 ^{cB}	3,60±0,17 ^{cC}	3,96±0,19 ^{bB}
YNHE	3,93±0,19 ^{cA}	3,71±0,18 ^{dB}	3,71±0,18 ^{eB}	3,74±0,18 ^{dB}
En küçük	3,60±0,17	3,60±0,17	3,60±0,17	3,52±0,17
En Büyük	5,14±0,25	5,03±0,24	5,03±0,24	4,29±0,21
Ortalama	4,04±0,20	4,00±0,19	4,04±0,20	3,80±0,19

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir (p<0.05)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir (p<0.05)

Çizelge 4.18. Yoğurtların % süt yağsız kuru madde değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Süt Yağsız Kuru madde (%) (%95 k=2)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	12,96±0,98 ^{bB}	13,41±0,99 ^{aA}	11,12±0,88 ^{eD}	12,37±0,89 ^{cC}
YM	14,13±0,94 ^{aB}	13,69±0,92 ^{aC}	13,77±0,95 ^{aBC}	14,78±0,98 ^{aA}
YNS	13,21±0,90 ^{bBC}	13,50±0,92 ^{aAB}	12,85±0,90 ^{bC}	13,75±0,92 ^{bA}
YNSE	12,47±0,87 ^{cB}	12,09±0,87 ^{bcB}	12,39±0,87 ^{cB}	13,44±0,92 ^{bA}
YNH	11,64±0,84 ^{dB}	11,70±0,84 ^{cAB}	12,09±0,84 ^{dAB}	12,09±0,86 ^{cA}
YNHE	12,78±0,89 ^{bcA}	12,22±0,85 ^{bB}	12,42±0,86 ^{cAB}	12,55±0,87 ^{cAB}
En küçük	11,64±0,84	11,70±0,84	11,12±0,88	12,09±0,86
En Büyük	14,13±0,94	13,69±0,92	13,65±0,95	14,78±0,98
Ortalama	12,87±0,90	12,77±0,90	12,42±0,88	13,16±0,91

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir (p<0.05)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir (p<0.05)

Yoğurtların kuru madde içeriğine bağlı olarak değişen süt yağsız kuru madde değerleri Çizelge 4.18’de verilmiştir. En düşük ortalama süt yağsız kuru madde değeri YNH kodlu kontrol yoğurduna (%11,87) ait olup en yüksek değerlere sahip örnekler sırasıyla YM (%14,08) ve YNS (%13,32)’dir. Yoğurtların depolama boyunca süt yağsız kuru madde değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak

önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). Depolamanın 1. gününe ait örneklerin ortalama süt yağsız kuru madde değeri %12,87 iken, 21. gününde %13,15'tir (Çizelge 4.18). YM kodlu yoğurt örneğinin YC kodlu kontrol grubuna göre yağ oranlarının düşük olması sebebiyle buna paralel olarak süt yağsız kuru madde değerlerinde artış söz konusu olmuştur.

Yoğurtların 21 gün depolama sürecinde pH değerlerindeki değişime ait veriler Çizelge 4.19'da verilmiştir. Depolama süresinin çok önemli seviyede etkili olduğu pH değerlerinde yoğurtların zamanla hızla pH'larının azaldığı gözlemlenmiştir. Depolamanın 1. gününde 4,15-4,30 aralığında ölçülen pH değerleri depolamanın 21. gününde 3,86-3,99 aralığına kadar düşmüştür. Bu durumda yoğurt bakterilerinin faaliyetlerinin payı büyüktür. Çünkü zamanla titre edilebilir asitliği artırmaktadırlar. YC kodlu kontrol grubu yoğurt örneğinde pH değeri en yüksekken, mikroalgin katıldığı yoğurtlarda (YM, YNSE, YNHE) pH değerleri daha düşük tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. Yoğurtların pH değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	pH (20-21°C'de)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,20±0,01 ^{eA}	4,03±0,01 ^{dC}	4,07±0,01 ^{aB}	3,99±0,01 ^{aD}
YM	4,30±0,01 ^{aA}	3,95±0,01 ^{fB}	3,93±0,01 ^{dC}	3,89±0,01 ^{eD}
YNS	4,22±0,01 ^{dA}	4,05±0,01 ^{bB}	3,97±0,01 ^{bC}	3,97±0,01 ^{bC}
YNSE	4,22±0,01 ^{cA}	4,09±0,01 ^{aB}	3,90±0,01 ^{fC}	3,86±0,01 ^{fD}
YNH	4,15±0,01 ^{fA}	4,01±0,01 ^{eB}	3,95±0,01 ^{cC}	3,92±0,01 ^{dD}
YNHE	4,25±0,01 ^{bA}	4,04±0,01 ^{cB}	3,90±0,01 ^{eD}	3,92±0,01 ^{cC}
En küçük	4,15±0,01	3,95±0,01	3,90±0,01	3,86±0,01
En Büyük	4,30±0,01	4,09±0,01	4,07±0,01	3,99±0,01
Ortalama	4,22±0,01	4,03±0,01	3,95±0,01	3,93±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Spirulina tozu katılmış yoğurtlarda laktik asit bakterilerinin canlılığının mikroalg tarafından desteklendiği ve aynı zamanda titre edilebilir asitliği artırdığı ile ilgili literatürde bilgiler mevcuttur (Shin ve diğerleri, 2008). Fox (aktaran Guldaz ve Irkin, 2010) *Spirulina* mikroalginin yapısında bulunan önemli miktarda protein, vitamin, mineral gibi besinlerin hem yoğurt starter bakterileri hem de probiyotik bakteriler için eşsiz bir kaynak olabileceğini ifade

etmiştir. Çünkü gelişmek ve canlılıklarını sürdürebilmek için besinlere ihtiyaç duyar (Kearney ve diğerleri, 2008).

Elde ettiğimiz veriler literatürdeki sonuçlarla uyumludur. Depolama sırasında asitlik gelişiminin yavaşlamasıyla ürünün raf ömrü uzamaktadır (Lauber ve diğerleri, 2001; Neve ve diğerleri, 2001). Depolama boyunca asitliğin artması raf ömrü açısından istenen bir özellik değildir.

Çizelge 4.20. Yoğurtların % LA titre edilebilir asitlik değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Titre Edilebilir Asitlik (%LA)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	1,21±0,01 ^{dD}	1,35±0,01 ^{fC}	1,68±0,01 ^{dA}	1,58±0,01 ^{bB}
YM	1,40±0,01 ^{aD}	1,63±0,01 ^{aC}	1,83±0,01 ^{aA}	1,77±0,01 ^{aB}
YNS	1,21±0,01 ^{cD}	1,54±0,01 ^{bB}	1,79±0,01 ^{bA}	1,52±0,01 ^{dD}
YNSE	1,17±0,01 ^{fD}	1,40±0,01 ^{cC}	1,67±0,01 ^{eA}	1,55±0,01 ^{cB}
YNH	1,20±0,01 ^{eD}	1,41±0,01 ^{cC}	1,58±0,01 ^{fA}	1,49±0,01 ^{eB}
YNHE	1,31±0,01 ^{bD}	1,40±0,01 ^{dC}	1,73±0,01 ^{cA}	1,46±0,01 ^{fB}
En küçük	1,17±0,01	1,35±0,01	1,58±0,01	1,46±0,01
En Büyük	1,40±0,01	1,63±0,01	1,79±0,01	1,77±0,01
Ortalama	1,25±0,01	1,46±0,01	1,71±0,01	1,56±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Depolama sırasında özellikle laktoz içeriğindeki artışla birlikte asitlik de hızla artmaktadır (Özer, 2006). Elde edilen sonuçlarda da benzer durum görülmüştür. Titre edilebilir asitlik değeri mikroalgin direkt eklendiği YM kodlu yoğurt örneğinde, YC kodlu kontrol grubuna göre hissedilir şekilde artmıştır. Bu durum enkapsüle mikroalgli yoğurtlarda (YNSE ve YNHE) görülmemiştir. Enkapsülenmemiş mikroalg içeren yoğurt (YM) ile karşılaştırıldığında daha düşük değerler gözlemlenmiştir. Dahası, kontrol yoğurduna yakın sonuçlar göstermiştir. Titre edilebilir asitlik değerleri, soğuk depolama sırasında tüm örnekler için artmıştır. Depolamanın 1. gününde örnekler için titre edilebilir asitlik değeri ortalama 1,25 iken, 21. gününde 1,56 olmuştur (Çizelge 4.20). Depolamanın titre edilebilir asitlik değerlerindeki etkisi, duyu asitlik muayenesinde de panelistler tarafından hissedilmiş ve ifade edilmiştir.

Yoğurtların depolama boyunca pH değerlerinin ve titre edilebilir asitlik değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.24).

Yoğurtlarda kül içeriğinin ise depolama koşullarında azaldığı görülmüştür. Burada, kül miktarının bir kısmının serumla birlikte ortamdan ayrılmış olabileceği düşünülmüştür (Özer, 2006). Kül miktarının YC kodlu kontrol yoğurduna kıyasla YM kodlu mikroalgin eklendiği örnekte yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.21. Yoğurtların % kül değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Kül (%)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	1,13±0,01 ^{bA}	1,13±0,01 ^{cA}	1,10±0,01 ^{cB}	1,04±0,01 ^{bC}
YM	1,20±0,01 ^{aA}	1,18±0,01 ^{aB}	1,17±0,01 ^{aB}	1,13±0,01 ^{aC}
YNS	1,14±0,01 ^{bB}	1,17±0,01 ^{bA}	1,11±0,01 ^{bC}	1,01±0,01 ^{cD}
YNSE	1,03±0,01 ^{cA}	1,02±0,01 ^{dAB}	1,01±0,01 ^{dB}	0,99±0,01 ^{dC}
YNH	1,03±0,04 ^{cA}	0,98±0,01 ^{eAB}	0,96±0,01 ^{eB}	0,89±0,01 ^{eC}
YNHE	1,03±0,01 ^{cA}	0,94±0,01 ^{fB}	0,93±0,01 ^{fB}	0,83±0,01 ^{fC}
En küçük	1,03±0,01	0,94±0,01	0,93±0,01	0,83±0,01
En Büyük	1,20±0,01	1,18±0,01	1,17±0,01	1,13±0,01
Ortalama	1,09±0,02	1,07±0,01	1,05±0,01	0,98±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca kül değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). Depolamanın 1. gününde kül değerlerinde örneklerin ortalaması 1,09 iken 21. gününde 0,98'dir (Çizelge 4.21).

Yoğurdun sahip olduğu kabul edilebilir derecedeki tekstürel ve duyuşal özelliklerinin depolama süresince korunabilmesi için süt proteinlerinde artış sağlanması gerekmektedir. Tüm yoğurtlarda toplam protein yüzdesi %3,96 ile %5,48 arasında değişkenlik göstermiştir. Genel olarak depolama süresi boyunca protein miktarlarında artış meydana gelmiştir (Çizelge 4.22). Mikroalgin eklendiği YM kodlu yoğurt örneğinde protein içeriğindeki artış kontrol

grubuna göre hissedilir bir şekilde gözlemlenmiştir. Böylece mikroalgin bu tez çalışmasında tespit edilen yüksek protein içeriği, katıldığı yoğurtlarda da olumlu yönde katkıda bulunmuş olup protein içeriğini artırmıştır.

Çizelge 4.22. Yoğurtların % toplam protein değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Toplam Protein (%)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,72±0,30 ^{dC}	4,85±0,31 ^{bB}	5,09±0,32 ^{bA}	4,61±0,29 ^{dD}
YM	5,48±0,35 ^{aA}	5,30±0,33 ^{aC}	5,46±0,35 ^{aA}	5,16±0,33 ^{aB}
YNS	4,88±0,31 ^{bB}	4,65±0,30 ^{cD}	4,92±0,31 ^{dA}	4,79±0,31 ^{bC}
YNSE	4,68±0,30 ^{eC}	4,55±0,29 ^{dD}	4,85±0,31 ^{eA}	4,77±0,30 ^{cB}
YNH	4,42±0,28 ^{fB}	4,34±0,28 ^{eC}	4,53±0,29 ^{fA}	3,96±0,25 ^{eD}
YNHE	4,79±0,31 ^{cB}	4,34±0,28 ^{eC}	4,94±0,31 ^{cA}	4,78±0,30 ^{bcB}
En küçük	4,42±0,28	4,34±0,28	4,53±0,29	3,96±0,25
En Büyük	5,48±0,35	5,30±0,33	5,46±0,35	5,16±0,33
Ortalama	4,83±0,31	4,67±0,30	4,97±0,32	4,77±0,30

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca protein değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). Depolama boyunca protein değerlerinde dalgalanma söz konusu olup 1. güne ait örnekler arası ortalama değer %4,83 iken 21. güne ait değer ise %4,67 olarak bulunmuştur. Kuru madde değerlerindeki değişikliğe bağlı olarak protein değerleri de paralel olarak değişim göstermiştir.

Yoğurtların 21 günlük depolaması esnasında laktoz değerlerindeki değişim Çizelge 4.23'te gösterilmiştir. Buna göre genel olarak % laktoz değerlerinde artış tespit edilmiştir. Depolanmanın 1. gününde örneklerin ortalama laktoz miktarı %5,69 iken son gününde bu değer %5,94'e çıkmıştır.

Çizelge 4.23. Yoğurtların % laktoz değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Laktoz (%) (%95 k=2)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	5,28±0,26 ^{fD}	5,86±0,29 ^{bB}	5,62±0,27 ^{cC}	6,36±0,31 ^{bA}
YM	6,29±0,31 ^{aB}	5,86±0,29 ^{bC}	5,78±0,28 ^{bD}	6,47±0,32 ^{aA}
YNS	5,96±0,29 ^{bD}	6,07±0,30 ^{aC}	6,14±0,30 ^{aB}	6,29±0,31 ^{bA}
YNSE	5,70±0,28 ^{cA}	5,27±0,26 ^{dB}	5,12±0,25 ^{eC}	5,65±0,28 ^{dA}
YNH	5,47±0,27 ^{dD}	5,58±0,27 ^{cC}	5,62±0,27 ^{cB}	5,80±0,28 ^{cA}
YNHE	5,43±0,27 ^{eB}	5,09±0,25 ^{eC}	5,49±0,27 ^{dA}	5,08±0,25 ^{eC}
En küçük	5,28±0,26	5,09±0,25	5,12±0,25	5,08±0,25
En Büyük	6,29±0,31	6,07±0,30	6,14±0,30	6,47±0,32
Ortalama	5,69±0,24	5,62±0,28	5,63±0,27	5,94±0,29

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca laktoz değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakılacak olunursa istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardır ($p<0.05$) (Çizelge 4.24). En düşük laktoz miktarı YNSE kodlu yoğurda, en yüksek laktoz miktarı ise YNS kodlu yoğurda aittir.

Çizelge 4.24. Fizikokimyasal özelliklerin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Kuru madde	Yağ	Süt Yağsız Kuru madde	pH	Titre Edilebilir Asitlik	Kül	Protein	Laktoz
YC	8	17,33 ^b	4,87 ^a	12,46 ^c	4,08 ^a	1,46 ^d	1,11 ^b	4,82 ^b	5,78 ^b
YM	8	17,80 ^a	3,72 ^d	14,08 ^a	4,02 ^d	1,66 ^a	1,18 ^a	5,30 ^a	6,10 ^a
YNS	8	17,04 ^c	3,72 ^d	13,32 ^b	4,06 ^b	1,52 ^b	1,11 ^b	4,81 ^b	6,11 ^a
YNSE	8	16,50 ^d	3,91 ^b	12,59 ^c	4,02 ^d	1,45 ^e	1,02 ^c	4,71 ^c	5,43 ^d
YNH	8	15,76 ^f	3,88 ^b	11,88 ^d	4,01 ^c	1,43 ^f	0,97 ^d	4,31 ^d	5,62 ^c
YNHE	8	16,26 ^c	3,77 ^c	12,49 ^c	4,03 ^c	1,48 ^c	0,94 ^e	4,71 ^c	5,27 ^c
Depolama Süresi (gün)									
1.gün	12	16,97 ^{ab}	4,05 ^a	12,86 ^b	4,23 ^a	1,26 ^d	1,10 ^a	4,83 ^b	5,69 ^b
7.gün	12	16,77 ^b	4,01 ^b	12,76 ^b	4,03 ^b	1,46 ^c	1,08 ^b	4,64 ^d	5,62 ^c
14.gün	12	16,48 ^c	4,05 ^a	12,43 ^c	3,96 ^c	1,72 ^a	1,05 ^c	4,97 ^a	5,63 ^c
21.gün	12	16,97 ^a	3,81 ^c	13,16 ^a	3,93 ^d	1,57 ^b	0,99 ^d	4,68 ^c	5,94 ^a
ANOVA									
Örnek Çeşidi		*	*	*	*	*	*	*	*
Depolama Süresi		*	*	*	*	*	*	*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi	x	*	*	*	*	*	*	*	*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (* $p < 0.05$)

Üretilen 6 farklı yoğurdun bakteri miktarlarındaki değişimler 21 günlük depolama süresi boyunca hafta hafta Çizelge 4.25'te verilmiştir. Yoğurtlarda asitlendirilmiş MRS ve M17 besiyerlerinde *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin uygun sıcaklık ortamında üretilerek koloni sayım tekniğine dayalı elde edilmiş sonuçlarında laktik asit bakterileri sayıları $8,04 \log_{10}$ kob/g ile $9,34 \log_{10}$ kob/g arasında dağılım göstermiştir. Kontrol yoğurduna göre diğer yoğurt türlerinde laktik asit bakterileri sayıları daha fazla bulunmuştur. *Spirulina* tozunun yoğurda eklendiği bir çalışmada, ilaveyle birlikte tüm bakterilerin canlılıklarının arttığı ifade edilmiştir (Guldas ve Irkin, 2010). Bu durumun *Spirulina* mikroalginin besleyici özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Akalin ve diğerleri, 2009).

Çizelge 4.25. Yoğurtlarda yapılan mikrobiyolojik analizlerin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	MRSA ($\log_{10}$ kob/g) (<i>L. bulgaricus</i>)	M17 ($\log_{10}$ kob/g) (<i>S. thermophilus</i>)	TOPLAM ($\log_{10}$ kob/g) (Toplam laktik asit bakterileri)
YC	1.	$7,15 \pm 0,01$	$8,23 \pm 0,01$	$8,26 \pm 0,01$
	7.	$8,48 \pm 0,01$	$8,94 \pm 0,01$	$8,08 \pm 0,01$
	14.	$8,11 \pm 0,01$	$8,34 \pm 0,01$	$8,54 \pm 0,01$
	21.	$8,20 \pm 0,01$	$8,20 \pm 0,01$	$8,51 \pm 0,01$
YM	1.	$7,66 \pm 0,01$	$8,26 \pm 0,01$	$8,36 \pm 0,01$
	7.	$8,32 \pm 0,01$	$8,20 \pm 0,01$	$8,57 \pm 0,01$
	14.	$8,34 \pm 0,01$	$8,18 \pm 0,01$	$8,57 \pm 0,01$
	21.	$8,08 \pm 0,01$	$7,78 \pm 0,01$	$8,26 \pm 0,01$
YNS	1.	$7,26 \pm 0,01$	$7,96 \pm 0,01$	$8,04 \pm 0,01$
	7.	$8,60 \pm 0,01$	$8,72 \pm 0,01$	$8,96 \pm 0,01$
	14.	$8,38 \pm 0,01$	$8,52 \pm 0,01$	$8,75 \pm 0,01$
	21.	$8,30 \pm 0,01$	$7,93 \pm 0,01$	$8,46 \pm 0,01$
YNSE	1.	$7,41 \pm 0,01$	$7,98 \pm 0,01$	$8,08 \pm 0,01$
	7.	$8,78 \pm 0,01$	$8,60 \pm 0,01$	$9,00 \pm 0,01$
	14.	$8,38 \pm 0,01$	$8,20 \pm 0,01$	$8,60 \pm 0,01$
	21.	$8,18 \pm 0,01$	$7,30 \pm 0,01$	$8,23 \pm 0,01$
YNH	1.	$7,38 \pm 0,01$	$8,41 \pm 0,01$	$8,45 \pm 0,01$
	7.	$8,45 \pm 0,01$	$7,79 \pm 0,01$	$8,53 \pm 0,01$
	14.	$8,41 \pm 0,01$	$8,08 \pm 0,01$	$8,58 \pm 0,01$
	21.	$8,30 \pm 0,01$	$8,26 \pm 0,01$	$8,58 \pm 0,01$
YNHE	1.	$7,23 \pm 0,01$	$7,90 \pm 0,01$	$8,99 \pm 0,01$
	7.	$9,32 \pm 0,01$	$7,78 \pm 0,01$	$9,34 \pm 0,01$
	14.	$8,34 \pm 0,01$	$7,91 \pm 0,01$	$8,48 \pm 0,01$
	21.	$8,34 \pm 0,01$	$8,34 \pm 0,01$	$8,64 \pm 0,01$

Çizelge 4.26. Yoğurtların laktik asit bakterileri sayıları değişimi

Mikrobiyolojik (log₁₀ kob/g)				
Örnek Çeşidi	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	8,26±0,01 ^{dC}	8,08±0,01 ^{fD}	8,54±0,01 ^{dA}	8,51±0,01 ^{cB}
YM	8,36±0,01 ^{cB}	8,57±0,01 ^{dA}	8,57±0,01 ^{cA}	8,26±0,01 ^{eC}
YNS	8,04±0,01 ^{fD}	8,96±0,01 ^{cA}	8,75±0,01 ^{aB}	8,46±0,01 ^{dC}
YNSE	8,08±0,01 ^{eD}	9,00±0,01 ^{bA}	8,60±0,01 ^{bB}	8,23±0,01 ^{cF}
YNH	8,45±0,01 ^{bC}	8,53±0,01 ^{eB}	8,58±0,01 ^{cA}	8,58±0,01 ^{bA}
YNHE	8,99±0,01 ^{aB}	9,34±0,01 ^{aA}	8,48±0,01 ^{eD}	8,64±0,01 ^{aC}
En küçük	8,04±0,01	8,08±0,01	8,48±0,01	8,23±0,01
En Büyük	8,99±0,01	9,34±0,01	8,75±0,01	8,64±0,01
Ortalama	8,36±0,01	8,75±0,01	8,59±0,01	8,45±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir (p<0.05)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir (p<0.05)

Çizelge 4.27. Laktik asit bakterileri sayılarının istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	log₁₀ kob/g
YC	8	8,35 ^f
YM	8	8,45 ^e
YNS	8	8,56 ^b
YNSE	8	8,48 ^d
YNH	8	8,54 ^c
YNHE	8	8,87 ^a
Depolama Süresi (gün)		
1.gün	12	8,37 ^d
7.gün	12	8,75 ^a
14.gün	12	8,59 ^b
21.gün	12	8,45 ^c
ANOVA		
Örnek Çeşidi		*
Depolama Süresi		*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.05)*

Yoğurtların depolama boyunca laktik asit bakterileri sayılarının değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi, depolama süresi ve örnek çeşidi x depolama süresi açısından değerler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.27). Depolanmanın 1. gününde yoğurtlarda bulunan laktik asit bakterileri sayısı 8,36 log₁₀ kob/g

iken, 21. gününde 8,45 log₁₀ kob/g'dir. Her iki karakteristik mikroorganizmanın depolama sonuna kadar yoğurtlarda mevcut oldukları ve canlı kaldıkları düşünülmüştür.

Yoğurtlarda görülen serum ayrılması, istenmeyen yapısal kusurlardan biridir. Oluşma sebepleri olarak düşük miktardaki süt bileşenleri (protein içeriği, kuru madde içeriği vb.), hızlı asitlik değişimleri, inkübasyon sırasında sarsma, yetersiz pastörizasyon uygulaması, zayıf ürün formülasyonu ve yetersiz inkübasyon sayılabilir (Bakırcı ve diğerleri, 2015; Bulut-Solak ve Akın, 2012; Pearse ve Mackinlay, 1989). Depolama sırasında ayrılan serumun miktarı, yoğurdun kalitesini gösteren en önemli parametrelerden olup fazla miktarda serumun ayrılması istenmeyen olumsuz bir durumdur (Senaka Ranadheera ve diğerleri, 2012).

Asitlik değeri de, yoğurdun yapısını ve serumun ayrılmasını etkilemektedir. Yoğurt üretiminde pH 5,2-5,3'te kazein parçacıklarının destabilizasyonu sonucunda başlayan pıhtılaşma, izoelektrik nokta olan pH 4,6-4,7'de tamamlanmaktadır (Tamime ve Robinson, 1999). Kazein yoğurtta pH 4,6'dan küçük değerlerde daha fazla su tutarken, sonuçta daha az serum ayrılır. Üretim esnasında kuru madde artırıldığında viskozite artarken, serum ayrılması ise azalmaktadır. Yoğurt jelinin sıklığı aynı zamanda protein içeriği ile de bağlantılıdır. pH 4,0 ile 4,6 arasında proteinler daha fazla su tutarken, viskozite artar (Atamer ve diğerleri, 1986). Protein moleküllerinin kümelenmesi ile sıklık da artar, serum ayrılması azalır. Proteinler arası etkileşimler tamamlanmadığında zayıf pıhtı olduğu için serum ayrılması riski de artmaktadır (Dannenberg ve Kessler, 1988). Aynı zamanda bir çalışmada süt yağı globüllerinin de su tutmada önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Hongyu ve diğerleri, 2001).

Depolama süresi boyunca yoğurtlarda serum ayrılması değerlerinde bir dalgalanma vardır. Protein ve kazeindeki değişimler bu durumdan sorumlu etkenlerdir. Yoğurt numunelerinden ayrılan serum miktarlarında depolama süresi boyunca meydana gelen serum ayrılması değerleri Çizelge 4.28'de verilmiştir. Biri kontrol grubu olmak üzere, 6 farklı yoğurt örneğinden ayrılan serum miktarlarında muhafaza boyunca genel olarak azalma tespit edilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, serum ayrılması değerleri 4,11/25 g yoğurt ile 5,07 mL/25 g yoğurt arasında değişmekte olup, minimum (2,97 mL/25 g yoğurt) ve maksimum (7,30 mL/25 g yoğurt) değerler sırasıyla YC ve YNH kodlu örneklerde saptanmıştır.

Çizelge 4.28. Yoğurtların serum ayrılması değerleri değişimi

Serum Ayrılması (mL/ 25 g yoğurt)				
Örnek Çeşidi	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,90±0,01 ^{dB}	2,79±0,01 ^{fD}	4,30±0,01 ^{cC}	5,15±0,01 ^{bA}
YM	3,00±0,07 ^{fD}	4,63±0,01 ^{cA}	3,95±0,01 ^{eB}	3,68±0,01 ^{eC}
YNS	4,30±0,01 ^{eB}	5,00±0,07 ^{bA}	3,00±0,07 ^{fC}	4,38±0,01 ^{dB}
YNSE	5,60±0,01 ^{bB}	5,88±0,01 ^{aA}	4,45±0,01 ^{bC}	3,38±0,01 ^{fD}
YNH	7,30±0,01 ^{aA}	4,25±0,01 ^{dC}	4,10±0,01 ^{dD}	4,73±0,01 ^{cB}
YNHE	5,30±0,01 ^{cB}	4,18±0,01 ^{eD}	4,83±0,01 ^{aC}	5,40±0,01 ^{aA}
En küçük	3,00±0,01	2,79±0,01	3,00±0,01	3,38±0,01
En Büyük	7,30±0,01	5,88±0,01	4,83±0,01	5,40±0,01
Ortalama	5,07±0,02	4,46±0,02	4,11±0,02	4,45±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.29. Serum ayrılması değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Serum Ayrılması
YC	8	4,29 ^d
YM	8	3,83 ^f
YNS	8	4,20 ^e
YNSE	8	4,83 ^c
YNH	8	5,10 ^a
YNHE	8	4,93 ^b
Depolama Süresi (gün)		
1.gün	12	5,08 ^a
7.gün	12	4,47 ^b
14.gün	12	4,12 ^c
21.gün	12	4,46 ^b
ANOVA		
Örnek Çeşidi		*
Depolama Süresi		*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0.05$)*

Yoğurtların depolama boyunca serum ayrılması değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakılacak olunursa istatistiksel olarak farklılık vardır ($p<0.05$) (Çizelge 4.29). Depolamanın 1. gününde 5,07 mL/25 g yoğurt serum ayrılmışken son gününde 4,45 mL/25 g yoğurt serum ayrılmıştır.

Üretilen 6 farklı yoğurt örneğinde depolama boyunca fenolik madde açısından da analizler yapılmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak elde edilen toplam fenolik madde değerleri Çizelge 4.30'daki gibi değişim göstermiştir. Yoğurtlarda toplam fenolik madde değerleri 1,44-5,23 mg GAE/g örnek arasında dağılım göstermiştir. Elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığında kontrol grubuna göre *Spirulina* mikroalginin katıldığı yoğurtlarda toplam fenolik maddede artış görülmüştür. Yine ekstraktlı yoğurtlarda da nar kabuğunun içerisindeki değerli fenolik bileşiklerden ötürü toplam fenolik maddede oldukça yüksek değerler tespit edilmiştir.

Yoğurtların depolama boyunca toplam fenolik madde değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.32). Depolama koşullarında da bu artışlar devam etmiştir. Bu artışın enkapsüllü yoğurt örneklerinde (YNSE, YNHE) mikroenkapsüllerden antioksidan özellikteki fenolik maddelerin kontrollü salınımından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda yoğurt bakterilerinin canlılığını sürdürebilmesi için *Spirulina* mikroalginin içeriğindeki değerli besin öğelerini kullanabilecekleri ve bu besin öğelerinin parçalanma ürünlerinin de toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitede artışa neden olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle mikroalgin direkt katıldığı örnekte (YM) de diğerlerine nazaran az olmakla birlikte depolama süresince aynı durum söz konusudur. Ekstraktlı yoğurtlarda (YNS, YNH) nar kabuğunda bulunan ellagitanninlerin direkt salınımı ve parçalanması ile farklı fenolik bileşiklere dönüşümleri neticesinde değerlerde dalgalanmalar olabileceği düşünülmüştür. YC kodlu yoğurt örneğinde ise hissedilir bir artış gözlemlenmemiştir. İlk güne ait ortalama değer 1,93 mg GAE/g örnek iken, son gününde 2,37 mg GAE/g örnek bulunmuştur.

Üretilen 6 farklı yoğurt örneğinin depolama boyunca antioksidan kapasite analizleri ABTS metodu ile yapılmış ve troloks kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak elde edilen değerlerdeki değişimler değerlendirilmiştir (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Yoğurtlarda yapılan spektroskopik analizlerin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Toplam Fenolik Madde (gallik asit eşdeğeri/g örnek)	Antioksidan Kapasite (mg troloks/g örnek)
YC	1.	1,44±0,05	0,17±0,04
	7.	2,01±0,06	0,18±0,08
	14.	2,05±0,02	0,14±0,00
	21.	2,10±0,01	0,25±0,06
YM	1.	2,01±0,23	0,16±0,03
	7.	2,40±0,13	0,17±0,03
	14.	2,83±0,10	0,09±0,00
	21.	2,28±0,11	0,35±0,15
YNS	1.	2,12±0,50	0,30±0,01
	7.	2,27±0,11	0,31±0,03
	14.	3,31±0,72	0,25±0,02
	21.	3,34±1,77	0,57±0,02
YNSE	1.	2,16±0,93	0,18±0,05
	7.	2,19±0,02	0,19±0,02
	14.	5,23±0,25	0,40±0,02
	21.	2,28±0,10	0,36±0,15
YNH	1.	2,27±0,05	0,23±0,08
	7.	1,97±0,10	0,25±0,02
	14.	3,09±0,00	0,22±0,00
	21.	2,14±0,09	0,42±0,04
YNHE	1.	1,58±0,12	0,16±0,02
	7.	1,98±0,23	0,10±0,00
	14.	2,63±0,00	0,19±0,12
	21.	2,10±0,10	0,31±0,02

Tüm yoğurtlarda antioksidan kapasitede kontrol yoğurduna göre bir artış olmuştur. Bu durumda nar kabuğunda doğal halde bulunan antioksidan etki gösteren değerli fenolik bileşiklerin etkisi fazladır. Ekstraksiyonla doğal ortamından ayrılan fenolik bileşiklerin hem ekstrakt olarak hem de enkapsüller halinde katıldığı yoğurtlarda yüksek antioksidan etki gösterdiği düşünülmüştür. Aynı zamanda mikroalgler de içeriğindeki sayısız serbest radikallerden dolayı doğal antioksidan etki göstermektedirler (Barkallah ve diğerleri, 2017). Dolayısıyla *Spirulina* mikroalginin katıldığı yoğurtlarda da net bir artış gözlemlenmiştir. Mikroalgin yapısındaki klorofil, karotenoid ve fikosiyanin içeriğindeki artışla da ilişkilendirilmiştir (Beheshtipour ve diğerleri, 2012). Benzer durum, kontrol yoğurduna göre hidroksil radikal süpürme aktivitesinin ve aynı zamanda besin miktarının daha fazla bulunduğu çalışmalarda da görülmüştür (Shin ve diğerleri, 2008). Elde ettiğimiz sonuçlar, literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Yoğurtların depolama boyunca antioksidan kapasite değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları da yine istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.32). Mikroalg biyokütlesinden fenoliklerin ve fikosiyanınların salınımı ile enkapsüle antioksidan maddenin kontrollü salınımına bağlı olarak radikal süpürme aktivite değerlerinde bir artış söz konusudur (Alizadeh Khaledabad ve diğerleri, 2020). Depolamanın 1. gününde antioksidan kapasite ortalama 0,20 mg troloks/g örnek iken, 21. gününde 0,38 mg troloks/g örnek'tir.



Çizelge 4.31. Yoğurtların spektroskopik analiz değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Toplam Fenolik Madde				Antioksidan Kapasite			
	Depolama Süresi				Depolama Süresi			
	1	7	14	21	1	7	14	21
YC	1,44±0,05 ^{bc}	2,01±0,06 ^{bb}	2,05±0,02 ^{dAB}	2,10±0,01 ^{aA}	0,17±0,04 ^{bAB}	0,18±0,08 ^{bAB}	0,14±0,00 ^{cdB}	0,25±0,06 ^{cA}
YM	2,01±0,23 ^{abC}	2,40±0,13 ^{bb}	2,83±0,10 ^{bcA}	2,28±0,11 ^{aBC}	0,16±0,03 ^{bb}	0,17±0,03 ^{bb}	0,09±0,00 ^{dB}	0,35±0,15 ^{bcA}
YNS	2,12±0,50 ^{abA}	2,27±0,11 ^{aA}	3,31±0,72 ^{bA}	3,34±1,77 ^{aA}	0,30±0,01 ^{aB}	0,31±0,03 ^{aB}	0,25±0,02 ^{bc}	0,57±0,02 ^{aA}
YNSE	2,16±0,93 ^{abB}	2,19±0,02 ^{aB}	5,23±0,25 ^{aA}	2,28±0,10 ^{aB}	0,18±0,05 ^{bb}	0,19±0,02 ^{bb}	0,40±0,02 ^{aA}	0,36±0,15 ^{bcA}
YNH	2,27±0,05 ^{aB}	1,97±0,10 ^{abD}	3,09±0,00 ^{bcA}	2,14±0,09 ^{aC}	0,23±0,08 ^{abB}	0,25±0,02 ^{abB}	0,22±0,00 ^{bcB}	0,42±0,04 ^{abA}
YNHE	1,58±0,12 ^{abC}	1,98±0,23 ^{bb}	2,63±0,00 ^{cA}	2,10±0,10 ^{aB}	0,16±0,02 ^{bb}	0,10±0,00 ^{bb}	0,19±0,12 ^{bcB}	0,31±0,02 ^{bcA}
En küçük	1,44±0,05	1,97±0,10	2,05±0,02	2,10±0,01	0,16±0,03	0,10±0,00	0,09±0,00	0,25±0,06
En Büyük	2,27±0,05	2,40±0,13	5,23±0,25	3,34±1,77	0,30±0,01	0,31±0,03	0,40±0,02	0,57±0,02
Ortalama	1,93±0,31	2,14±0,11	3,19±0,18	2,37±0,36	0,20±0,04	0,20±0,03	0,22±0,03	0,38±0,07

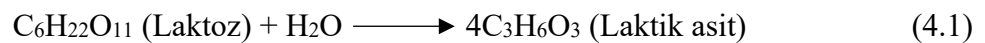
a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)
A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.32. Spektroskopik analiz değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Toplam Fenolik Madde	Antioksidan Kapasite
YC	12	1,90 ^c	0,18 ^c
YM	12	2,38 ^b	0,19 ^c
YNS	12	2,76 ^a	0,360 ^a
YNSE	12	2,97 ^a	0,28 ^b
YNH	12	2,37 ^b	0,28 ^b
YNHE	12	2,07 ^{bc}	0,19 ^c
Depolama Süresi (gün)			
1.gün	18	1,93 ^c	0,20 ^b
7.gün	18	2,14 ^{bc}	0,20 ^b
14.gün	18	3,19 ^a	0,22 ^b
21.gün	18	2,37 ^b	0,38 ^a
ANOVA			
Örnek Çeşidi		*	*
Depolama Süresi		*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*	*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.05)*

Yoğurt üretiminde kullanılan starter kültürlerin (*Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus*) her ikisi de homofermentatif yolla süt şekerini yani laktozu metabolize eder (4.1). Ortamda oluşan laktik asit pH'yı düşürerek jelleşmeye kadar olan süreci başlatır. Aynı zamanda, yoğurtta keskin asidik tadın oluşumuna katkıda bulunup tat ve aromasının dengesinde görev alır (Zourari ve diğerleri, 1992).



Fermantasyon sonucu laktik asit oluşumu, yoğurt üretiminde kullanılan bakteri suşlarının türüne bağlıdır.

Elde edilen 6 farklı yoğurtta bulunan organik asitlerin analizi için depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde alınan örneklerin HPLC-DAD ile kromatografik olarak analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.33'te verilmiştir. Laktik asit oluşumunun yanında sitrik asit ve ürik asit de tespit edilmiştir.

Çizelge 4.33. Yoğurtlarda yapılan organik asit analizlerinin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Laktik asit (ppm)	Sitrik asit (ppm)	Ürik asit (ppm)
YC	1.	693,40±0,14	109,75±0,58	450,24±0,85
	7.	697,78±10,45	138,28±16,96	456,95±8,58
	14.	706,41±0,61	169,49±42,54	449,44±0,85
	21.	730,74±21,39	139,55±7,87	412,32±14,84
YM	1.	775,37±0,15	120,70±0,37	470,95±1,29
	7.	819,76±2,87	130,59±2,17	477,98±9,43
	14.	836,72±0,01	160,57±2,68	493,19±2,12
	21.	838,42±165,04	146,06±29,01	450,34±72,35
YNS	1.	719,02±0,62	123,99±0,18	490,60±0,72
	7.	727,12±6,78	130,43±1,05	481,59±7,14
	14.	750,11±2,52	158,25±0,87	492,12±7,26
	21.	754,54±63,79	143,34±34,55	457,35±53,81
YNSE	1.	676,89±0,01	111,94±0,41	432,70±0,70
	7.	675,83±0,07	130,38±2,17	429,41±8,94
	14.	760,62±1,42	168,06±2,43	423,45±2,95
	21.	738,86±92,75	127,01±11,46	416,32±37,85
YNH	1.	679,72±0,46	111,61±0,16	447,93±0,43
	7.	676,70±7,64	121,54±0,30	449,11±6,15
	14.	657,51±0,47	147,64±3,21	446,30±1,08
	21.	739,11±152,47	142,28±27,62	418,67±80,58
YNHE	1.	721,68±0,32	111,78±0,21	429,92±0,82
	7.	669,27±8,70	129,11±3,63	431,11±5,51
	14.	745,64±0,16	165,22±5,54	436,50±6,88
	21.	726,39±45,14	124,65±4,38	407,36±12,52

Yoğurtların depolama boyunca laktik asit değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olurken ($p<0.05$), depolama süresi bakımından istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Yine örnek çeşidi x depolama süresi bakımından da sonuçlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$) (Çizelge 4.37).

Laktik asit miktarı örneklerde 657,51 ppm ile 838,42 ppm arasında dağılım göstermiştir (Çizelge 4.34). YM kodlu yoğurt örneğinde laktik asit miktarları, YC kodlu kontrol yoğurt örneğine nazaran yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.34. Yoğurtların laktik asit değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Laktik asit			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	693,40±0,14 ^{dB}	697,78±10,45 ^{cAB}	706,41±0,61 ^{eAB}	730,74±21,39 ^{aA}
YM	775,37±0,15 ^{aA}	819,76±2,87 ^{aA}	836,72±0,01 ^{aA}	838,42±165,04 ^{aA}
YNS	719,02±0,62 ^{cA}	727,12±6,78 ^{bA}	750,11±2,52 ^{cA}	754,54±63,79 ^{aA}
YNSE	676,89±0,01 ^{fA}	675,83±0,07 ^{dA}	760,62±1,42 ^{bA}	738,86±92,75 ^{aA}
YNH	679,72±0,46 ^{eA}	676,70±7,64 ^{dA}	657,51±0,47 ^{fA}	739,11±152,47 ^{aA}
YNHE	721,68±0,32 ^{bAB}	669,27±8,70 ^{dB}	745,64±0,16 ^{dA}	726,39±45,14 ^{aAB}
En küçük	676,89±0,01	669,27±8,70	657,51±0,47	726,39±45,14
En Büyük	775,37±0,15	819,76±2,87	836,72±0,01	838,42±165,04
Ortalama	711,01±0,28	711,08±6,09	742,84±0,87	754,68±90,10

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.35. Yoğurtların sitrik asit değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Sitrik asit			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	109,75±0,58 ^{cA}	138,28±16,96 ^{aA}	169,49±42,54 ^{aA}	139,55±7,87 ^{aA}
YM	120,70±0,37 ^{aA}	130,59±2,17 ^{aA}	160,57±2,68 ^{aA}	146,06±29,01 ^{aA}
YNS	123,99±0,18 ^{aA}	130,43±1,05 ^{aA}	158,25±0,87 ^{aA}	143,34±34,55 ^{aA}
YNSE	111,94±0,41 ^{bC}	130,38±2,17 ^{aB}	168,06±2,43 ^{aA}	127,01±11,46 ^{aBC}
YNH	111,61±0,16 ^{bA}	121,54±0,30 ^{aA}	147,64±3,21 ^{aA}	142,28±27,62 ^{aA}
YNHE	111,78±0,21 ^{bB}	129,11±3,63 ^{aB}	165,22±5,54 ^{aA}	124,65±4,38 ^{aB}
En küçük	109,75±0,58	121,54±0,30	147,64±3,21	124,65±4,38
En Büyük	123,99±0,18	138,28±16,96	169,49±42,54	146,06±29,01
Ortalama	114,96±0,32	130,06±4,38	161,54±9,55	137,15±19,15

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca sitrik asit değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi bakımından istatistiksel olarak önemsiz bulunurken ($p>0.05$), depolama süresi bakımından istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar söz konusudur ($p<0.05$) (Çizelge 4.37).

Depolamanın 1. gününde örnekler için ortalama sitrik asit miktarı 114,96 ppm iken, 21. gününde ise 137,15 ppm olmuştur (Çizelge 4.35). Yine örnek çeşidi x depolama süresi bakımından da sonuçlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Çizelge 4.36. Yoğurtların ürik asit değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Ürik asit			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	450,24±0,85 ^{cA}	456,95±8,58 ^{bA}	449,44±0,85 ^{bA}	412,32±14,84 ^{aB}
YM	470,95±1,29 ^{bA}	477,98±9,43 ^{aA}	493,19±2,12 ^{aA}	450,34±72,35 ^{aA}
YNS	490,60±0,72 ^{aA}	481,59±7,14 ^{aA}	492,12±7,26 ^{aA}	457,35±53,81 ^{aA}
YNSE	432,70±0,70 ^{eA}	429,41±8,94 ^{dA}	423,45±2,95 ^{dA}	416,32±37,85 ^{aA}
YNH	447,93±0,43 ^{dA}	449,11±6,15 ^{bcA}	446,30±1,08 ^{bcA}	418,67±80,58 ^{aA}
YNHE	429,92±0,82 ^{fA}	431,11±5,51 ^{cdA}	436,50±6,88 ^{cA}	407,36±12,52 ^{aB}
En küçük	429,92±0,82	429,41±8,94	423,45±2,95	407,36±12,52
En Büyük	490,60±0,72	481,59±7,14	493,19±2,12	457,35±53,81
Ortalama	453,72±0,80	454,36±7,63	456,83±3,52	427,06±45,33

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca ürik asit değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi ve depolama süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar varken ($p<0.05$), örnek çeşidi x depolama süresi bakımından istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$) (Çizelge 4.37).

Örnekler arasında en düşük ürik asit değerine sahip YNSE kodlu yoğurt (425,47 ppm) örneği iken, en yüksek ürik asit değerine sahip YNS kodlu yoğurt (480,41 ppm) örneğidir. Depolamanın 1. gününde örnekler için ortalama ürik asit miktarı 453,72 ppm iken, 21. gününde ise bu miktar 427,06 ppm olmuştur (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.37. Organik asit değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Laktik asit	Sitrik Asit	Ürik Asit
YC	8	707,08 ^b	139,27 ^a	442,24 ^b
YM	8	817,57 ^a	139,48 ^a	473,12 ^a
YNS	8	737,70 ^b	139,00 ^a	480,42 ^a
YNSE	8	713,05 ^b	134,34 ^a	425,47 ^b
YNH	8	688,26 ^b	130,77 ^a	440,50 ^b
YNHE	8	715,74 ^b	132,69 ^a	426,22 ^b
Depolama Süresi (gün)				
1.gün	12	711,01 ^a	114,96 ^c	453,73 ^a
7.gün	12	711,08 ^a	130,05 ^b	454,36 ^a
14.gün	12	742,83 ^a	161,54 ^a	456,83 ^a
21.gün	12	754,68 ^a	137,15 ^b	427,06 ^b
ANOVA				
Örnek Çeşidi		*	Önemsiz	*
Depolama Süresi		Önemsiz	*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)*

Yoğurtta fermentasyon esnasında üretilen uçucu organik tat/aroma bileşenleri, depolamanın ilk 24 saati içerisinde oluşumunu büyük miktarda tamamlamaktadır (Imhof ve diğerleri, 1994). Karbonil bileşikler ve laktik asit, tat/aroma dengesini oluşturmada birincil faktördür (Beshkova ve diğerleri, 1998).

Yoğurtta bulunan karbonil bileşenlerinin birbirlerine oranlarının tat ve aromaya olan katkılarına ilişkin bir çalışma bulunmamaktadır. Yoğurdun temel aroma bileşeni asetaldehit olup; asetoin, diasetil gibi diğer minör bileşenleri ise tat ve aroma dengesinde destekleyici etkiye sahip aroma bileşenleridir (Thornhill ve Cogan, 1984). Her iki yoğurt kültürü de bu karbonil bileşenlerini üretebilmektedir.

Asetaldehit, depolama sırasında kolayca asetata okside olduğu için yoğurdun klasik tat/aroma özelliklerinde bir miktar azalma olmaktadır. Yoğurt üretiminde kullanılan sütün türüne ve yağ özelliklerine bağlı olarak da artan bu kayıp, genelde yağlı sütlerle sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda depolama sürecinde meydana gelen asetaldehit miktarı düşüşü, diasetil+asetoin konsantrasyonunda görülmemiştir. Çünkü yoğurt bakterileri diasetil redüktaz enzimi aktivitesi sınırlıdır (Hegazi ve Abo-Elnaga, 1990).

Çizelge 4.38. Yoğurtlarda yapılan uçucu organik bileşen analizinin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Asetaldehit (ppm)	Diasetil (ppm)	Asetoin (ppm)
YC	1.	20,07±0,01	1,70±0,01	69,45±0,01
	21.	16,52±0,01	1,05±0,01	42,42±0,01
YM	1.	12,20±0,01	0,93±0,01	36,06±0,01
	21.	14,03±0,01	0,99±0,01	36,73±0,01
YNS	1.	14,83±0,01	0,63±0,01	52,55±0,01
	21.	12,69±0,01	0,70±0,01	57,93±0,01
YNSE	1.	21,66±0,01	0,81±0,01	37,20±0,01
	21.	18,50±0,01	0,82±0,01	33,28±0,01
YNH	1.	18,98±0,01	0,77±0,01	72,70±0,01
	21.	21,09±0,01	0,88±0,01	50,63±0,01
YNHE	1.	19,30±0,01	1,06±0,01	58,53±0,01
	21.	19,42±0,01	0,94±0,01	58,88±0,01

Depolamanın başında (1. gün) ve sonunda (21. gün) 6 farklı yoğurttan alınan örneklerde uçucu organik bileşen tayini GC-MS-FID-HS sistemi ile yapılmış olup sonuçları Çizelge 4.38’de verilmiştir. Karışık yoğurt kültürü kullanılarak yapılan bir üretimde asetaldehit 2,0-41,0 µg/g, aseton 1,3-4,0 µg/g, asetoin 2,2-5,7 µg/g ve diasetil 0,4-0,9 µg/g aralıklarında saptanmıştır (Tamime ve Robinson, 1999). Karakteristik yoğurt tat/aromasının oluşması için en ideal asetaldehit konsantrasyonu aralığı ise 10-25 ppm’dir. Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre, yoğurt örneklerimizde ideal aralıklarda asetaldehit ve diasetil oluşumu gözlemlenmiştir. Ancak asetoin açısından üst sınırın üstünde (>5,7 µg/g) bir oluşum gözlemlenmiştir.

Detaylı olarak bakıldığında, asetaldehitin miktarında depolamanın 1. gününe kıyasla 21. günde YC, YNS ve YNSE kodlu yoğurtlarda azalma gözlemlenmiştir. YM, YNH ve YNHE kodlu yoğurtlarda ise az miktarda artma gözlemlenmiştir. YNSE kodlu yoğurt örneğinde hissedilir bir artış olmamıştır. Dolayısıyla, YM, YNH ve YNHE yoğurtlarda asetaldehit yönünden tat ve aromada depolamanın sonuncu gününde bir artış söz konusudur. Diasetil miktarları açısından değerlendirildiğinde ise depolamanın 1. gününe kıyasla 21. günde YC ve YNHE kodlu yoğurtlarda azalma meydana gelmiştir. YM, YNS, YNSE ve YNH kodlu yoğurtlarda belirgin bir değişim gözlenmemekle birlikte depolamanın sonuna dek diasetil yönünden tat ve aroma korunmuştur. Asetoin karbonil bileşenini içeren yoğurtlardan YC, YNSE ve YNH kodlu olanlarında depolamanın son gününe gelindiğinde belirgin bir azalma

oluşturmuştur. YM, YNS ve YNHE kodlu yoğurtlarda ise az miktarda artış söz konusu olmuş, tat ve aromada asetoinin katkısı depolamanın son gününe kadar korunmuştur.

Çizelge 4.39. Yoğurtların uçucu organik bileşen değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Asetaldehit (ppm)		Diasetil (ppm)		Asetoin (ppm)	
	Depolama Süresi		Depolama Süresi		Depolama Süresi	
	1	21	1	21	1	21
YC	20,07±0,01 ^{bA}	16,52±0,01 ^{dB}	1,70±0,01 ^{aA}	1,05±0,01 ^{aB}	69,45±0,01 ^{bA}	42,42±0,01 ^{dB}
YM	12,20±0,01 ^{fB}	14,03±0,01 ^{eA}	0,93±0,01 ^{cB}	0,99±0,01 ^{bA}	36,06±0,01 ^{fB}	36,73±0,01 ^{eA}
YNS	14,83±0,01 ^{eA}	12,69±0,01 ^{fB}	0,63±0,01 ^{fB}	0,70±0,01 ^{fA}	52,55±0,01 ^{dB}	57,93±0,01 ^{bA}
YNSE	21,66±0,01 ^{aA}	18,50±0,01 ^{cB}	0,81±0,01 ^{dB}	0,82±0,01 ^{eA}	37,20±0,01 ^{eA}	33,28±0,01 ^{fB}
YNH	18,98±0,01 ^{dB}	21,09±0,01 ^{aA}	0,77±0,01 ^{eB}	0,88±0,01 ^{dA}	72,70±0,01 ^{aA}	50,63±0,01 ^{cB}
YNHE	19,30±0,01 ^{cB}	19,42±0,01 ^{bA}	1,06±0,01 ^{bA}	0,94±0,01 ^{cB}	58,53±0,01 ^{cB}	58,88±0,01 ^{aA}
En küçük	12,20±0,01	12,69±0,01	0,63±0,01	0,70±0,01	36,06±0,01	33,28±0,01
En Büyük	21,66±0,01	21,09±0,01	1,70±0,01	1,05±0,01	72,70±0,01	58,88±0,01
Ortalama	17,84±0,01	17,04±0,01	0,98±0,01	0,90±0,01	54,42±0,01	46,65±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca uçucu organik bileşenlerin değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında tüm organik bileşen çeşitleri için sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.40). Asetaldehit yönünden en az miktarı içeren örnek YM kodlu yoğurt (13,14 ppm) örneğinde iken, diasetil yönünden YNS kodlu (0,67 ppm) ve asetoin yönünden ise YNSE kodlu (35,24 ppm) yoğurt örneğinde tespit edilmiştir. En yüksek değerler ise sırasıyla asetaldehitte YNSE kodlu (20,08 ppm), diasetilde YC kodlu (1,38 ppm) ve asetoinde de YNH kodlu (61,67 ppm) yoğurt örneğinde görülmüştür. Depolamanın 1. gününde 17,85 ppm olan asetaldehit miktarı, 21. günde 17,04 ppm'e doğru azalmıştır. Diasetil bakımından ise sıralama 0,986 ppm (1. gün) ve 0,901 ppm (21. gün) iken, asetoinde bu sıralama 54,42 ppm (1. gün) ve 46,65 ppm (21. gün) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.39).

Çizelge 4.40. Uçucu organik bileşen değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Asetaldehit	Diasetil	Asetoin
YC	4	18,30 ^d	1,38 ^a	55,94 ^c
YM	4	13,14 ^f	0,97 ^c	36,40 ^e
YNS	4	13,77 ^e	0,67 ^f	55,25 ^d
YNSE	4	20,09 ^a	0,82 ^e	35,25 ^f
YNH	4	20,04 ^b	0,83 ^d	61,67 ^a
YNHE	4	19,37 ^c	1,01 ^b	58,71 ^b
Depolama Süresi (gün)				
1.gün	12	17,85 ^a	0,99 ^a	54,42 ^a
21.gün	12	17,05 ^b	0,90 ^b	46,65 ^b
ANOVA				
Örnek Çeşidi		*	*	*
Depolama Süresi		*	*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*	*	*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)*

Üretilen 6 farklı yoğurdun depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde alınan örnekleri Tekstür profil analizleri için işleme alınmış olup elde edilen tüm sonuçlar Çizelge 4.41’de verilmiştir. Ölçümler, steril numune kaplarındaki yoğurt örneklerine direkt daldırma ile yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada *Spirulina* eklenmiş yoğurtlarda yoğurdun dokusal özellikleri ile duysal kabul edilebilirliğinin korunduğu ifade edilmiştir (Barkallah ve diğerleri, 2017).

Sıklık parametresinde en yüksek değer YC kodlu (302,69) kontrol yoğurdunda, en düşük değer ise YNH kodlu (205,61) yoğurt örneğinde ölçülmüştür (Çizelge 4.42). Depolama boyunca sıklık değerleri artmış olup, 1. günde 235,66 olan değer 21. günde 267,19 olmuştur.

Kıvam parametresinde de sonuçlar sıklık ile paralel olarak değişim göstermiştir. En yüksek değer yine YC kodlu (7643) kontrol yoğurdunda, en düşük değer ise YNH kodlu (4935,99) yoğurt örneğinde ölçülmüştür (Çizelge 4.43). Depolama boyunca kıvam değerleri artmış olup, 1. günde 5681,69 olan değer 21. günde 6579,81 olmuştur.

Çizelge 4.41. Yoğurtlarda yapılan tekstür profil analizlerinin sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Sıkılık (Firmness) (g)	Kıvam (Consistency) (g.sn)	İç Yapışkanlık (Cohesiveness) (g)	Viskozite (Viscosity) (g.sn)
YC	1.	236,65	5887,47	-136,95	-253,37
	7.	253,19	6454,02	-154,48	-320,66
	14.	310,38	7536,37	-156,53	-334,04
	21.	410,43	10694,04	-249,36	-499,00
YM	1.	314,07	6908,37	-164,64	-333,92
	7.	327,72	7164,48	-167,23	-354,68
	14.	242,66	6136,05	-144,97	-298,07
	21.	280,59	6990,35	-159,60	-289,73
YNS	1.	262,89	6915,45	-172,07	-339,18
	7.	268,68	6403,00	-160,54	-293,38
	14.	264,59	6499,08	-205,48	-293,42
	21.	283,11	6539,22	-183,77	-356,20
YNSE	1.	204,90	4837,23	-207,59	-243,36
	7.	241,36	5851,74	-227,96	-239,87
	14.	230,59	5371,10	-130,39	-258,10
	21.	217,15	5434,45	-132,13	-285,37
YNH	1.	186,02	4501,69	-127,64	-202,59
	7.	227,45	5557,80	-124,23	-238,24
	14.	207,51	5010,24	-110,42	-202,91
	21.	201,45	4674,20	-105,03	-174,79
YNHE	1.	209,34	5039,86	-123,24	-259,66
	7.	203,73	4950,61	-120,47	-234,45
	14.	213,90	5099,54	-140,91	-203,47
	21.	210,46	5146,61	-111,01	-207,19

İç yapışkanlık ve viskozite parametrelerinde elde edilen veriler sadece vektörel olarak negatif değer almışlardır. Büyüklük olarak (-) değerler gözetmeksizin sonuçlar değerlendirilmiştir. İç yapışkanlık parametresinde en yüksek değer bu sefer YNS kodlu (-180,47) kontrol yoğurdunda, en düşük değer ise YNH kodlu (-116,83) yoğurt örneğinde ölçülmüştür (Çizelge 4.44). Depolama boyunca genel olarak iç yapışkanlık değerlerinde artma olmuş, 1. günde -155,34 olan değer, 21. günde -156,82'ye yükselmiştir.

Kıvam sonuçlarıyla uyumlu olarak değişen viskozite değerlerinde de en yüksek değer YC kodlu (-351,78) kontrol yoğurduna, en düşük değer ise YNH kodlu (-204,62) yoğurt örneğine aittir (Çizelge 4.45). Depolama boyunca genel olarak viskozite değerlerinde de bir artış söz konusudur, buna göre 1. günde -272,01 olan değer, 21. günde -302,05 olmuştur.

Çizelge 4.42. Yoğurtların sıklık değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Sıklık			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	236,65±0,11 ^{cD}	253,19±0,08 ^{cC}	310,38±0,01 ^{aB}	410,43±0,01 ^{aA}
YM	314,07±0,01 ^{aB}	327,72±0,01 ^{aA}	242,66±0,01 ^{cC}	280,59±0,01 ^{cD}
YNS	262,89±0,01 ^{bD}	268,68±0,01 ^{bB}	264,59±0,01 ^{bC}	283,11±0,01 ^{bA}
YNSE	204,90±0,01 ^{eD}	241,36±0,01 ^{dA}	241,36±0,01 ^{dB}	217,15±0,01 ^{dC}
YNH	186,02±0,01 ^{fD}	227,45±0,01 ^{eA}	207,51±0,01 ^{fB}	201,45±0,01 ^{fC}
YNHE	209,34±0,01 ^{dC}	203,73±0,01 ^{fD}	213,90±0,01 ^{eA}	210,46±0,01 ^{eB}
En küçük	186,02±0,01	203,73±0,01	207,51±0,01	201,46±0,01
En Büyük	314,07±0,01	327,72±0,01	310,38±0,01	410,43±0,01
Ortalama	235,65±0,03	253,69±0,02	246,73±0,01	235,65±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.43. Yoğurtların kıvam değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Kıvam			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	5887,47±0,09 ^{cD}	6454,02±0,06 ^{bC}	7536,37±0,01 ^{aB}	10694,04±0,01 ^{aA}
YM	6908,37±0,01 ^{bC}	7164,48±0,01 ^{aA}	6136,05±0,01 ^{cD}	6990,35±0,01 ^{bB}
YNS	6915,45±0,01 ^{aA}	6403,00±0,01 ^{cD}	6499,08±0,01 ^{bC}	6539,22±0,01 ^{cB}
YNSE	4837,23±0,01 ^{eD}	5851,74±0,01 ^{dA}	5371,10±0,01 ^{dC}	5434,45±0,01 ^{dB}
YNH	4501,69±0,01 ^{fD}	5557,80±0,01 ^{eA}	5010,24±0,01 ^{fB}	4674,20±0,01 ^{fC}
YNHE	5039,86±0,01 ^{dC}	4950,61±0,01 ^{fD}	5099,54±0,01 ^{eB}	5146,61±0,01 ^{eA}
En küçük	4501,69±0,01	4950,61±0,01	5010,24±0,01	4674,20±0,01
En Büyük	6915,45±0,01	7164,48±0,01	7536,37±0,01	10694,04±0,01
Ortalama	5681,17±0,02	6063,61±0,02	5942,06±0,01	4979,81±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.44. Yoğurtların iç yapışkanlık değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	İç Yapışkanlık			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	-136,95±0,11 ^{dD}	-154,48±0,01 ^{dC}	-156,53±0,04 ^{bB}	-249,36±0,01 ^{aA}
YM	-164,64±0,01 ^{cB}	-167,23±0,01 ^{bA}	-144,97±0,01 ^{cD}	-159,60±0,03 ^{cC}
YNS	-172,07±0,01 ^{bC}	-160,54±0,01 ^{cD}	-205,48±0,01 ^{aA}	-183,77±0,01 ^{bB}
YNSE	-207,59±0,01 ^{aB}	-227,96±0,01 ^{aA}	-130,39±0,01 ^{eD}	-132,13±0,01 ^{dC}
YNH	-127,64±0,01 ^{eA}	-124,23±0,01 ^{eB}	-110,42±0,01 ^{fC}	-105,03±0,01 ^{fD}
YNHE	-123,24±0,01 ^{fB}	-120,47±0,01 ^{fC}	-140,91±0,01 ^{dA}	-111,01±0,01 ^{eD}
En küçük	-123,24±0,01	-120,47±0,01	-110,42±0,01	-105,03±0,01
En Büyük	-207,59±0,01	-227,96±0,01	-205,48±0,01	-249,36±0,01
Ortalama	155,36±0,03	159,15±0,01	148,12±0,02	156,82±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.45. Yoğurtların viskozite değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Viskozite			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	-253,37±0,02 ^{dD}	-320,66±0,03 ^{bC}	-334,04±0,01 ^{aB}	-499,00±0,01 ^{aA}
YM	-333,92±0,01 ^{bB}	-354,68±0,01 ^{aA}	-298,07±0,01 ^{bC}	-289,73±0,01 ^{cD}
YNS	-339,18±0,01 ^{aB}	-293,38±0,01 ^{cD}	-293,42±0,01 ^{cC}	-356,20±0,01 ^{bA}
YNSE	-243,36±0,03 ^{cC}	-239,87±0,02 ^{dD}	-258,10±0,02 ^{dB}	-285,37±0,02 ^{dA}
YNH	-202,59±0,01 ^{fC}	-238,24±0,01 ^{eA}	-202,91±0,01 ^{fB}	-174,79±0,03 ^{fD}
YNHE	-259,66±0,01 ^{cA}	-234,45±0,01 ^{fB}	-203,47±0,01 ^{cD}	-207,19±0,01 ^{cC}
En küçük	-202,59±0,01	-234,45±0,01	-202,91±0,01	-174,79±0,01
En Büyük	-339,18±0,01	-354,68±0,01	-334,04±0,01	-499,00±0,01
Ortalama	-272,01±0,02	-280,21±0,02	-265,00±0,01	-302,05±0,02

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

TA.XT-plus Texture Analyser (Stable Micro Systems) cihazı ile elde edilen sonuçlara bakılacak olunursa, yoğurtların depolama boyunca tekstür profil analiz parametre değerlerinin değişimine ilişkin tüm istatistiksel analiz sonuçları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.46).

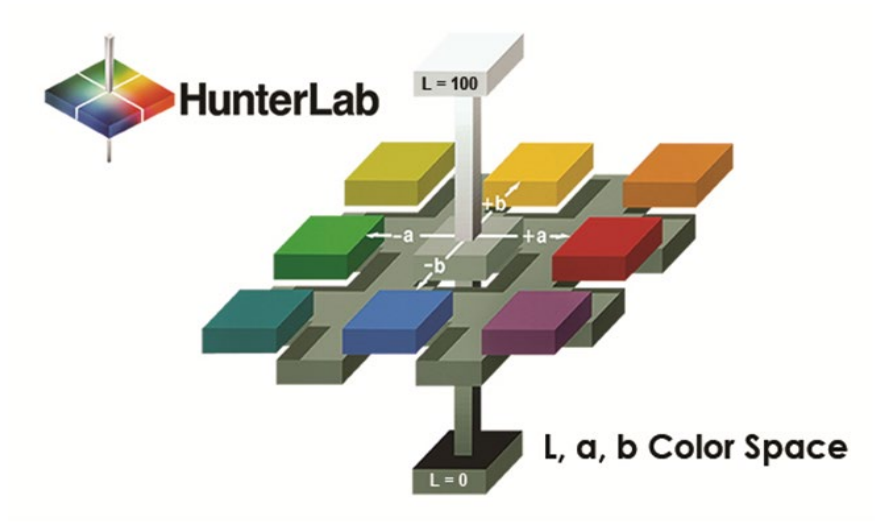
Çizelge 4.46. Tekstür profil analiz parametre değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Sıklık	Kıvam	İç Yapışkanlık	Viskozite
YC	8	302,70 ^a	7643,00 ^a	-174,32 ^c	-351,78 ^a
YM	8	291,26 ^b	6799,81 ^b	-159,11 ^d	-319,10 ^c
YNS	8	268,82 ^c	6589,19 ^c	-180,47 ^a	-320,55 ^b
YNSE	8	223,51 ^d	5373,63 ^d	-174,52 ^b	-256,67 ^d
YNH	8	205,61 ^f	4935,99 ^f	-116,84 ^f	-204,63 ^f
YNHE	8	209,36 ^e	5059,16 ^e	-123,91 ^e	-226,20 ^e
Depolama Süresi (gün)					
1.gün	12	235,66 ^d	5681,69 ^d	-155,35 ^c	-272,02 ^c
7.gün	12	253,70 ^b	6063,62 ^b	-159,16 ^a	-280,22 ^b
14.gün	12	244,94 ^c	5942,07 ^c	-148,12 ^d	-265,01 ^d
21.gün	12	267,20 ^a	6579,81 ^a	-156,82 ^b	-302,05 ^a
ANOVA					
Örnek Çeşidi		*	*	*	*
Depolama Süresi		*	*	*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*	*	*	*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)*

Süt ürünlerinde oluşan renkler tüketici kabulü ve satın alma niyeti bakımından son derece önem arz etmektedir (Dönmez ve diğerleri, 2017). Bu nedenle bu tez çalışmasında yoğurtların renk ölçüm analizleri de çalışılmıştır. Yoğurtların belirtilen 4 farklı depolama gününde alınan örnekleri üzerinden renk parametre değerleri tespit edilmiştir. Bu parametrelerde L aydınlık, a kırmızı ve yeşil renk yoğunluğunu, b ise sarı ve mavi renk yoğunluğunu temsil etmektedir (Şimşek ve diğerleri, 2010).

Hunter-Lab ile elde edilen renk ölçümü sonuçlarının değerlendirilmesinde aşağıdaki renk skalası kullanılmaktadır (Şekil 4.13). Üç boyutlu koordinat sisteminde L değeri dikey eksenle parlaklıktan/beyazdan (100), koyuluğa/siyaha (0) doğru olan değişimi ifade etmektedir. Buna göre, L değeri 100'e yaklaştıkça renk beyaza doğru, 0'a yaklaştıkça siyaha doğru gitmektedir. Koordinat sisteminde a; pozitif koordinatta (+) kırmızı ve negatif koordinatta (-) yeşil renkleri ifade etmektedir. a değeri negatif değerde büyüdükçe yeşil renk yoğunluğu, pozitif değerde büyüdükçe kırmızı renk yoğunluğu artmaktadır. b için ise yine negatif yönde değer büyüdükçe yoğun bir mavi, pozitif yönde değer büyüdükçe yoğun bir sarı renk algılanmaktadır.



Şekil 4.13. Renk ölçümü sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan renk skalası (TS 1466)

Mikroalglerin sanayi ürünlerinde kullanımını sınırlandıran önemli bir etki, ürünlerin rengini değiştiren yeşil pigmentler olup; bu etkiyi azaltan ve tavsiye edilen, yine mikroenkapsülasyon yöntemidir (Nourmohammadi ve diğerleri, 2020). 6 farklı yoğurdun paralelli olarak okunan değerleri Çizelge 4.47’de verilmiştir. Hunter-Lab cihazı ile elde edilen sonuçlara genel olarak bakılacak olunursa, yoğurtlarda *Spirulina* mikroalginin renginin baskın olduğu L/a/b değerleri ile net bir şekilde gözlemlenmiştir. YC, YNS ve YNH kodlu yoğurt örnekleri beyaza daha yakın renkte iken, YM, YNSE ve YNHE kodlu yoğurtlarda gri renge daha yakın sonuç elde edilmiştir.

Mikroalg eklenmesinin yoğurtların L değerleri üzerine etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.52). Mikroenkapsüllü yoğurtlar ne kadar beyaz olursa, mikroalgin varlığı o kadar az hissedilir (Nourmohammadi ve diğerleri, 2020). Enkapsüle mikroalg katılan yoğurtlara (YNSE, YNHE) nazaran enkapsüllenmemiş yoğurt örneğinde (YM) daha düşük L değerine rastlanmıştır. Depolamanın son gününe doğru ise tüm numunelerde azalma eğilimindedir.

a değerlerine bakılacak olunursa, beklendiği üzere YM, YNSE ve YNHE kodlu örneklerde yeşile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Örnekler arasında mikroalgin direkt eklendiği (YM) yoğurt örneğinde daha baskın bir renk olduğundan daha yüksek a değerine sahip olup, enkapsüllü *Spirulina*’larda (YNSE, YNHE) bu değer daha düşük tespit edilmiştir. Buradan kapsüllemenin, kapsüllerin yeşil rengini azalttığı sonucuna varılmıştır. Depolama koşullarında

ise giderek azalan bir yeşil renk sonucu gözlemlenmiştir. Diğerlerinde önemli bir renk ayrımı gözlemlenmemiştir. Ancak depolama koşullarında eksi yönde artış olmuştur.

Çizelge 4.47. Yoğurtlarda yapılan renk ölçümü sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	L	a	b
YC	1.	92,09±0,01	-2,39±0,00	12,41±0,01
	7.	91,88±0,01	-2,53±0,01	12,55±0,01
	14.	91,99±0,01	-2,40±0,01	12,41±0,05
	21.	91,80±0,02	-2,36±0,00	12,54±0,04
YM	1.	54,63±0,01	-15,73±0,00	5,48±0,01
	7.	53,41±0,01	-13,87±0,01	5,07±0,00
	14.	53,18±0,04	-14,10±0,01	5,06±0,02
	21.	53,46±0,09	-13,39±0,01	5,18±0,01
YNS	1.	86,64±0,01	-1,66±0,02	12,15±0,01
	7.	86,36±0,01	-1,78±0,01	12,27±0,00
	14.	86,23±0,15	-1,75±0,01	12,23±0,12
	21.	86,25±0,03	-1,83±0,01	12,39±0,01
YNSE	1.	58,76±0,05	-11,27±0,00	4,87±0,01
	7.	57,88±0,16	-9,97±0,01	4,98±0,01
	14.	57,17±0,08	-9,91±0,01	4,55±0,01
	21.	59,08±0,69	-9,24±0,00	4,89±0,01
YNH	1.	87,59±0,01	-1,55±0,00	11,92±0,01
	7.	87,39±0,04	-1,63±0,01	11,77±0,04
	14.	87,28±0,04	-1,62±0,00	11,73±0,01
	21.	87,32±0,04	-1,68±0,00	11,75±0,03
YNHE	1.	63,74±0,32	-6,91±0,05	5,49±0,03
	7.	60,33±0,31	-6,56±0,04	4,71±0,05
	14.	59,44±0,08	-6,60±0,01	4,69±0,02
	21.	60,20±0,06	-6,43±0,02	4,69±0,06

b değerlerinde ise yine aynı kodlu yoğurt örneği gruplarında benzer sonuçlar elde edilmiştir. YC, YNS ve YNH kodlu yoğurtlarda pozitif yönde artan yani sarıya doğru ilerleyen renkler gözlemlenmiştir. YM, YNSE ve YNHE kodlu yoğurtlar sarı renkten daha uzak sonuçlar vermiştir. Depolama koşullarında önemli bir fark elde edilmemiştir. İlerleyen günlerde ilk grup yoğurt örnekleri için daha sarı renkte olma durumu, ikinci grup yoğurt örnekleri için ise azalan bir sarı renk eğilimi söz konusudur.

Çizelge 4.48. Yoğurtların L değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	L			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	92,09±0,01 ^{aA}	91,88±0,01 ^{aC}	91,99±0,01 ^{aB}	91,80±0,02 ^{aD}
YM	54,63±0,01 ^{fA}	53,41±0,01 ^{fB}	53,18±0,04 ^{fC}	53,46±0,09 ^{fB}
YNS	86,64±0,01 ^{cA}	86,36±0,01 ^{cB}	86,23±0,15 ^{cB}	86,25±0,03 ^{cB}
YNSE	58,76±0,05 ^{eAB}	57,88±0,16 ^{eBC}	57,17±0,08 ^{eC}	59,08±0,69 ^{eA}
YNH	87,59±0,01 ^{bA}	87,39±0,04 ^{bB}	87,28±0,04 ^{bC}	87,32±0,04 ^{bBC}
YNHE	63,74±0,32 ^{dA}	60,33±0,31 ^{dB}	59,44±0,08 ^{dC}	60,20±0,06 ^{dB}
En küçük	54,63±0,01	53,41±0,01	53,18±0,04	53,46±0,09
En Büyük	92,09±0,01	91,88±0,01	91,99±0,01	91,80±0,02
Ortalama	73,91±0,07	72,88±0,09	72,55±0,07	73,04±0,16

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.49. Yoğurtların a değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	a			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	-2,39±0,00 ^{dB}	-2,53±0,01 ^{dA}	-2,40±0,01 ^{dB}	-2,36±0,00 ^{dC}
YM	-15,73±0,00 ^{aA}	-13,87±0,01 ^{aC}	-14,10±0,01 ^{aB}	-13,39±0,01 ^{aD}
YNS	-1,66±0,02 ^{cC}	-1,78±0,01 ^{cB}	-1,75±0,01 ^{cB}	-1,83±0,01 ^{cA}
YNSE	-11,27±0,00 ^{bA}	-9,97±0,01 ^{bB}	-9,91±0,01 ^{bC}	-9,24±0,00 ^{bD}
YNH	-1,55±0,00 ^{fC}	-1,63±0,01 ^{fB}	-1,62±0,00 ^{fB}	-1,68±0,00 ^{fA}
YNHE	-6,91±0,05 ^{cA}	-6,56±0,04 ^{cB}	-6,60±0,01 ^{cB}	-6,43±0,02 ^{cC}
En küçük	-1,55±0,00	-1,63±0,01	-1,62±0,00	-1,68±0,00
En Büyük	-15,73±0,00	-13,87±0,01	-14,10±0,01	-13,39±0,01
Ortalama	-5,43±0,01	-6,06±0,02	-6,06±0,01	-5,82±0,01

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

L değeri açısından en yüksek değer YC kodlu (91,94) kontrol grubunda iken, en düşük değer mikroalgin direkt katıldığı YM kodlu (53,67) yoğurt örneğinde görülmüştür (Çizelge 4.48). Depolamanın 1. gününde örneklerin ortalama L değeri 73,90 iken, son gününde 73,02 olmuştur.

a değeri açısından ise en yüksek değer beklendiği üzere YM kodlu (-14,27) yoğurt örneğindeyken, en düşük değer YNH kodlu (-1,62) yoğurt örneğindedir (Çizelge 4.49). Depolamanın 1. gününde -6,58 olan a değeri, 21. gününde -5,82'ye gerilemiştir.

Çizelge 4.50. Yoğurtların b değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	b			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	12,41±0,01 ^{aB}	12,55±0,01 ^{aA}	12,41±0,05 ^{aB}	12,54±0,04 ^{aA}
YM	5,48±0,01 ^{dA}	5,07±0,00 ^{dC}	5,06±0,02 ^{dC}	5,18±0,01 ^{dB}
YNS	12,15±0,01 ^{bB}	12,27±0,00 ^{bAB}	12,23±0,12 ^{bAB}	12,39±0,01 ^{bA}
YNSE	4,87±0,01 ^{eB}	4,98±0,01 ^{eA}	4,55±0,01 ^{fC}	4,89±0,01 ^{eB}
YNH	11,92±0,01 ^{cA}	11,77±0,04 ^{cB}	11,73±0,01 ^{cB}	11,75±0,03 ^{cB}
YNHE	5,49±0,03 ^{dA}	4,71±0,05 ^{fB}	4,69±0,02 ^{eB}	4,69±0,06 ^{fB}
En küçük	4,87±0,01	4,71±0,05	4,55±0,01	4,69±0,06
En Büyük	12,41±0,01	12,55±0,01	12,41±0,05	12,54±0,04
Ortalama	8,72±0,01	8,56±0,02	8,45±0,04	8,57±0,03

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

b değerlerinde ise durum şöyledir: en yüksek YC kodlu (12,47) ve en düşük YNSE kodlu (4,82) yoğurt örneği şeklindedir (Çizelge 4.50). Depolamanın 1. gününde b değeri 8,72 iken, son gününde 8,57 olmuştur.

Yoğurtların depolama boyunca renk ölçümü değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi, depolama süresi ve örnek çeşidi x depolama süresi bakımından tüm sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.52).

Genel olarak elde edilen sonuçlara göre, yoğurtlarda *Spirulina* mikroalginin baskın olduğu kanıtlanmıştır. Yoğurtların renkleri depolama koşullarında daha mat olma eğiliminde olmuştur. Bu da depolama süresi boyunca giderek azalan L/a/b değerleri ile uyumludur.

Çizelge 4.51. Renk ölçümü değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	L	a	b
YC	8	91,94 ^a	-2,42 ^d	12,47 ^a
YM	8	53,67 ^f	-14,27 ^a	5,20 ^d
YNS	8	86,37 ^c	-1,75 ^e	12,26 ^b
YNSE	8	58,22 ^e	-10,10 ^b	4,82 ^f
YNH	8	87,39 ^b	-1,62 ^f	11,79 ^c
YNHE	8	60,93 ^d	-6,62 ^c	4,89 ^e
Depolama Süresi (gün)				
1.gün	12	73,90 ^a	-6,58 ^a	8,72 ^a
7.gün	12	72,87 ^b	-6,05 ^b	8,56 ^b
14.gün	12	72,55 ^c	-6,06 ^b	8,44 ^c
21.gün	12	73,02 ^b	-5,82 ^c	8,57 ^b
ANOVA				
Örnek Çeşidi		*	*	*
Depolama Süresi		*	*	*
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		*	*	*

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)*

Tüketici tarafından beğenilen ve talep edilen yeni fonksiyonel ürünlerin üretilmesi açısından, öncesinde duyuusal muayene testinin yapılması son derece önemlidir. Üretilen bu 6 farklı yoğurt örneğinin duyuusal özelliklerine ait olan parametrelerin sonuçları Çizelge 4.52’de verilmiştir. Ayrıca, duyuusal değerlendirmelerin belirli periyotlar halinde düzenli olarak yapılması, tutarlı sonuçlar doğurur. Yoğurt örnekleri depolama süreci boyunca her hafta düzenli olarak aynı kişiler tarafından teste tabi tutulmuştur. Renk, görünüş, kıvam (kaşıktı), kıvam (ağızda) koku, tat, duyuusal asitlik ve genel kabul edilebilirlik parametreleri açısından toplam 7 kişi tarafından 1-5 puan aralığında hedonik test ile değerlendirilen yoğurt örnekleri genel olarak yüksek puanlarla beğeni almıştır.

Mikroalgli yoğurtlarda (YM, YNSE, YNHE) renk açısından diğer yoğurt örneklerine nazaran daha düşük puanlar söz konusudur. Üretim sırasında mikroalgin ve mikroenkapsüllerin tam anlamıyla çözünmemesinden dolayı homojen renk dağılımı elde edilemediğinden bu durumun sonuçlarda negatif etkisi görülmüştür. En düşük puanı YNHE kodlu yoğurt örneği, en yüksek puanı ise hiçbir şey katılmamış kontrol yoğurdu YC almıştır.

Bu durum görünüş ve kıvam parametrelerinde de görülmektedir. Dipte bir miktar tortu bulundurması panelistler tarafından olumsuz olarak değerlendirilmiştir. Bu açıdan en düşük

puanı YNHE, en yüksek puanı YC kodlu yoğurt örneği almıştır. Genel olarak, tüm yoğurt örnekleri kıvam açısından depolama süresi boyunca koyu bir akıcılığa sahip olmuştur. Dolayısıyla yoğurtlarda gözle görülebilir serum ayrılması olmamıştır veya az olmuştur. Sonuçlarda yine YNHE kodlu yoğurt örneği en düşük, YC kodlu yoğurt örneği en yüksek puanlara sahiptir.

Koku parametresinde kendine özgü, hoş koku, yosun ve meyvemsi koku aranan özellikler arasında yer almaktadır. *Spirulina* mikroalginin baskın yosun kokusu YM kodlu yoğurt örneğinin en düşük puanı almasına sebep olmuştur. Mikroalgin yer aldığı mikroenkapsüllü yoğurt örnekleri (YNHE ve YNSE), nar kabuğu ekstraktlarının katıldığı (YNH ve YNS) yoğurtlarla benzer ve aynı zamanda yüksek puanlara sahiptir. En yüksek puanı yine YC kodlu kontrol yoğurdu almıştır. Kendine özgü (hafif ekşimsi), yosunumsu ve meyvemsi tat özelliklerinin arandığı tat parametresinde ise ekstraktlı yoğurtlarda (YNH ve YNS) en yüksek puanları almıştır. En düşük puan ise YNSE kodlu yoğurt örneğinde görülmektedir.

Çizelge 4.52. Yoğurtların duyuusal muayene testi sonuçları

Örnek Çeşidi	Depolama Süresi (Gün)	Renk	Görünüş	Kıvam (Kaşıқта)	Kıvam (Ağızda)	Koku	Tat	Duyusal Asitlik	Genel Kabul Edilebilirlik
YC	1.	4,86±0,38	4,86±0,38	4,86±0,38	4,57±0,53	4,57±0,53	3,86±0,90	3,14±0,90	4,14±0,69
	7.	4,71±0,49	4,71±0,48	4,14±0,53	4,14±0,69	4,14±0,53	3,71±0,76	3,14±1,07	4,14±0,90
	14.	4,86±0,38	4,71±0,49	5,00±0,00	4,57±0,79	4,71±0,49	3,86±1,07	3,71±1,11	4,43±0,79
	21.	4,86±0,38	4,86±0,38	4,43±0,53	4,29±0,76	4,71±0,49	4,14±0,69	4,00±1,15	4,14±1,46
YM	1.	3,14±1,07	3,29±0,95	3,86±0,90	3,43±0,98	3,71±0,76	3,14±1,21	3,29±0,49	3,00±0,82
	7.	4,00±1,00	3,86±0,69	4,00±0,58	4,29±0,49	3,14±1,11	2,71±0,76	2,71±0,49	3,14±0,82
	14.	4,00±0,82	3,71±0,76	4,43±0,98	4,14±0,90	3,71±0,76	2,86±0,90	2,86±0,69	2,57±1,33
	21.	3,86±0,69	3,86±0,69	4,00±1,00	3,57±0,53	3,57±0,79	2,86±1,07	3,14±1,35	2,57±1,27
YNS	1.	4,14±0,38	4,29±0,49	4,29±0,95	3,71±0,98	4,00±0,58	3,86±0,69	4,00±0,82	3,86±0,69
	7.	4,14±1,07	4,29±0,95	4,14±0,69	3,86±0,90	4,14±0,90	3,86±0,90	3,43±0,98	3,71±0,95
	14.	4,14±0,69	4,29±0,76	4,86±0,38	4,43±0,82	4,29±0,76	4,14±0,90	3,43±1,27	3,57±1,13
	21.	4,29±0,95	4,14±0,90	4,43±0,79	4,14±0,58	4,14±0,69	3,86±0,90	3,71±0,95	3,14±0,69
YNSE	1.	3,43±0,98	3,57±0,98	3,71±1,11	3,57±0,98	4,14±0,69	3,71±0,76	3,43±0,53	3,43±0,79
	7.	3,86±0,69	3,71±0,76	3,71±0,76	3,86±0,90	4,00±0,58	3,43±0,79	3,29±0,38	3,57±0,79
	14.	4,43±0,53	4,29±0,49	4,43±0,53	4,00±0,82	4,00±0,58	3,71±1,11	3,00±1,29	2,71±1,89
	21.	3,86±0,38	4,00±0,58	4,14±0,90	4,00±0,58	3,86±0,90	3,14±0,90	3,42±0,79	3,14±0,90
YNH	1.	4,57±0,53	4,57±0,53	4,14±0,90	4,14±0,69	4,29±0,49	4,43±0,79	5,00±0,00	4,71±0,49
	7.	4,57±0,53	4,43±0,79	3,86±0,69	3,29±0,49	4,00±0,82	4,00±0,82	3,71±0,95	4,00±0,82
	14.	4,29±0,49	4,29±0,76	4,14±0,90	4,14±0,69	4,00±0,58	3,71±1,25	3,43±1,51	3,71±0,95
	21.	4,71±0,49	4,57±0,79	4,43±1,13	4,29±0,76	4,14±0,69	4,57±0,79	4,14±0,90	4,43±0,53
YNHE	1.	2,71±0,76	2,86±0,69	3,43±1,27	3,71±0,76	4,00±0,76	3,86±0,69	4,00±1,00	2,71±1,11
	7.	3,71±0,76	3,43±0,98	3,43±0,53	3,43±0,79	4,00±0,00	3,43±1,13	3,43±1,13	3,43±1,27
	14.	3,71±0,49	3,57±0,53	4,00±0,82	3,86±0,69	3,86±0,69	3,71±0,76	3,14±1,21	2,71±1,38
	21.	3,71±0,49	3,43±0,79	4,00±1,00	3,71±0,95	4,00±0,58	4,29±0,95	3,86±1,21	3,57±0,79

Çizelge 4.53. Yoğurtların renk değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Renk			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,86±0,38 ^{aA}	4,71±0,49 ^{aA}	4,86±0,38 ^{aA}	4,86±0,38 ^{aA}
YM	3,14±1,07 ^{bA}	4,00±1,0 ^{abcA}	4,00±0,82 ^{bcA}	3,86±0,69 ^{bA}
YNS	4,14±0,38 ^{bA}	4,14±1,07 ^{abcA}	4,14±0,69 ^{bcA}	4,29±0,95 ^{abA}
YNSE	3,43±0,98 ^{bB}	3,86±0,69 ^{bcAB}	4,43±0,53 ^{abA}	3,86±0,38 ^{bAB}
YNH	4,57±0,53 ^{aA}	4,57±0,53 ^{abA}	4,29±0,49 ^{abcA}	4,71±0,49 ^{aA}
YNHE	2,71±0,76 ^{bB}	3,71±0,76 ^{cA}	3,71±0,49 ^{cA}	3,71±0,49 ^{bA}
En küçük	2,71±0,76	3,71±0,76	3,71±0,49	3,71±0,49
En Büyük	4,86±0,38	4,71±0,49	4,86±0,38	4,86±0,38
Ortalama	3,80±0,68	4,17±0,76	4,24±0,57	4,22±0,56

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir (p<0.05)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir (p<0.05)

Çizelge 4.54. Yoğurtların görünüş değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Görünüş			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,86±0,38 ^{aA}	4,71±0,48 ^{aA}	4,71±0,49 ^{aA}	4,86±0,38 ^{aA}
YM	3,29±0,95 ^{cA}	3,86±0,69 ^{abcA}	3,71±0,76 ^{bcA}	3,86±0,69 ^{bcA}
YNS	4,29±0,49 ^{abA}	4,29±0,95 ^{abcA}	4,29±0,76 ^{abA}	4,14±0,90 ^{abcA}
YNSE	3,57±0,98 ^{bcA}	3,71±0,76 ^{bcA}	4,29±0,49 ^{abA}	4,00±0,58 ^{bcA}
YNH	4,57±0,53 ^{aA}	4,43±0,79 ^{abA}	4,29±0,76 ^{abA}	4,57±0,79 ^{abA}
YNHE	2,86±0,69 ^{cA}	3,43±0,98 ^{cA}	3,57±0,53 ^{cA}	3,43±0,79 ^{cA}
En küçük	2,86±0,69	3,43±0,98	3,57±0,53	3,43±0,79
En Büyük	4,86±0,38	4,71±0,48	4,71±0,49	4,86±0,38
Ortalama	3,91±0,67	4,07±0,78	4,14±0,63	4,14±0,69

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir (p<0.05)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir (p<0.05)

Duyusal asitlik parametresinde yoğurdun kendine özgü ekşiliğinin duyusal olarak değerlendirildiği yoğurtlarda en düşük puanı mikroalgin direkt eklendiği YM kodlu yoğurt örneği almıştır. Mikroalgin asitliği hızlandırdığı düşünülmüştür. Bu durum sonuçlara da yansımıştır.

Çizelge 4.55. Yoğurtların kıvam (kaşıқта) değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Kıvam (Kaşıқта)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,86±0,38 ^{aAB}	4,14±0,53 ^{aB}	5,00±0,00 ^{aA}	4,43±0,53 ^{aB}
YM	3,86±0,90 ^{abA}	4,00±0,58 ^{abcA}	4,43±0,98 ^{abcA}	4,00±1,00 ^{aA}
YNS	4,29±0,95 ^{abA}	4,14±0,69 ^{abA}	4,86±0,38 ^{abA}	4,43±0,79 ^{aA}
YNSE	3,71±1,11 ^{bA}	3,71±0,76 ^{bcA}	4,43±0,53 ^{abcA}	4,14±0,90 ^{aA}
YNH	4,14±0,90 ^{abA}	3,86±0,69 ^{abcA}	4,14±0,90 ^{bcA}	4,43±1,13 ^{aA}
YNHE	3,43±1,27 ^{bA}	3,43±0,53 ^{cA}	4,00±0,82 ^{cA}	4,00±0,82 ^{aA}
En küçük	3,43±1,27	3,43±0,53	4,00±0,82	4,00±1,00
En Büyük	4,86±0,38	4,14±0,53	5,00±0,00	4,43±1,13
Ortalama	4,05±0,92	3,88±0,63	4,48±0,60	4,24±0,86

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.56. Yoğurtların kıvam (ağızda) değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Kıvam (Ağızda)			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,57±0,53 ^{aA}	4,14±0,69 ^{abA}	4,57±0,79 ^{aA}	4,29±0,76 ^{aA}
YM	3,43±0,98 ^{bB}	4,29±0,49 ^{aA}	4,14±0,90 ^{aAB}	3,57±0,53 ^{aAB}
YNS	3,71±0,76 ^{abA}	3,86±0,69 ^{abcA}	4,43±0,53 ^{aA}	4,14±0,90 ^{aA}
YNSE	3,57±0,98 ^{bA}	3,86±0,90 ^{abcA}	4,00±0,82 ^{aA}	4,00±0,58 ^{aA}
YNH	4,14±0,69 ^{abA}	3,29±0,49 ^{cB}	4,14±0,69 ^{aA}	4,29±0,76 ^{aA}
YNHE	3,71±0,76 ^{abA}	3,43±0,79 ^{bcA}	3,86±0,69 ^{aA}	3,71±0,95 ^{aA}
En küçük	3,43±0,98	3,29±0,49	3,86±0,69	3,57±0,53
En Büyük	4,57±0,53	4,29±0,49	4,57±0,79	4,29±0,76
Ortalama	3,86±0,78	3,81±0,68	4,19±0,74	4,00±0,75

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Renk, görünüş, kıvam, koku, tat gibi duyuşal özellik parametrelerinin tümünü içeren genel kabul edilebilirlik kriteri açısından da değerlendirilen yoğurtlarda yine en düşük puan YM kodlu yoğurt örneğinde gözlemlenmiştir. En yüksek puan ise YC ve YNH kodlu yoğurtlarda görülmektedir.

Çizelge 4.57. Yoğurtların koku değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Koku			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,57±0,53 ^{aA}	4,14±0,53 ^{aA}	4,71±0,49 ^{aA}	4,71±0,49 ^{aA}
YM	3,71±0,76 ^{bA}	3,14±1,11 ^{bA}	3,71±0,76 ^{bA}	3,57±0,79 ^{bA}
YNS	4,00±0,58 ^{abAB}	4,14±0,90 ^{aB}	4,29±0,76 ^{abA}	4,14±0,69 ^{abAB}
YNSE	4,14±0,69 ^{abA}	4,00±0,58 ^{abA}	4,00±0,58 ^{bA}	3,86±0,90 ^{bA}
YNH	4,29±0,49 ^{abA}	4,00±0,82 ^{abA}	4,00±0,58 ^{bA}	4,14±0,69 ^{abA}
YNHE	4,00±0,76 ^{abA}	4,00±0,00 ^{abA}	3,86±0,69 ^{bA}	4,00±0,58 ^{abA}
En küçük	3,71±0,76	3,14±1,11	3,71±0,76	3,57±0,79
En Büyük	4,57±0,53	4,14±0,90	4,71±0,49	4,71±0,49
Ortalama	4,12±0,64	3,90±0,66	4,10±0,64	4,07±0,69

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.58. Yoğurtların tat değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Tat			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	3,86±0,90 ^{abA}	3,71±0,76 ^{aA}	3,86±1,07 ^{abA}	4,14±0,69 ^{aA}
YM	3,14±1,21 ^{bA}	2,71±0,76 ^{bA}	2,86±0,90 ^{bA}	2,86±1,07 ^{cA}
YNS	3,86±0,69 ^{abA}	3,86±0,90 ^{aA}	4,14±0,90 ^{aA}	3,86±0,90 ^{abA}
YNSE	3,71±0,76 ^{abA}	3,43±0,79 ^{abA}	3,71±1,11 ^{abA}	3,14±0,90 ^{bcA}
YNH	4,43±0,79 ^{aA}	4,00±0,82 ^{aA}	3,71±1,25 ^{abA}	4,57±0,79 ^{aA}
YNHE	3,86±0,69 ^{abA}	3,43±1,13 ^{abA}	3,71±0,76 ^{abA}	4,29±0,95 ^{aA}
En küçük	3,14±1,21	2,71±0,76	2,86±0,90	2,86±1,07
En Büyük	4,43±0,79	4,00±0,82	4,14±0,90	4,57±0,79
Ortalama	3,81±0,84	3,52±0,86	3,04±1,00	3,81±0,88

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Yoğurtların depolama boyunca duyuşal muayene test parametreleri değerlerinin değişimine ilişkin istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında örnek çeşidi bakımından sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.61). Depolama süresi ve örnek çeşidi x depolama süresi bakımından ise renk, kıvam (kaşıktı) ve duyuşal asitlik parametreleri dışında tüm sonuçlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Çizelge 4.59. Yoğurtların duyuasal asitlik değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Duyusal Asitlik			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	3,14±0,90 ^{cA}	3,14±1,07 ^{abA}	3,71±1,11 ^{aA}	4,00±1,15 ^{aA}
YM	3,29±0,49 ^{bcA}	2,71±0,49 ^{bA}	2,86±0,69 ^{aA}	3,14±1,35 ^{aA}
YNS	4,00±0,82 ^{bA}	3,43±0,98 ^{abA}	3,43±1,27 ^{aA}	3,71±0,95 ^{aA}
YNSE	3,43±0,53 ^{bcA}	3,29±0,38 ^{abA}	3,00±1,29 ^{aA}	3,42±0,79 ^{aA}
YNH	5,00±0,00 ^{aA}	3,71±0,95 ^{aB}	3,43±1,51 ^{aB}	4,14±0,90 ^{aAB}
YNHE	4,00±1,00 ^{bA}	3,43±1,13 ^{abA}	3,14±1,21 ^{aA}	3,86±1,21 ^{aA}
En küçük	3,14±0,90	2,71±0,49	2,86±0,69	3,14±1,35
En Büyük	5,00±0,00	3,71±0,95	3,71±1,11	4,14±0,90
Ortalama	2,29±0,62	3,29±0,83	3,26±1,18	3,71±1,06

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.60. Yoğurtların genel kabul edilebilirlik değerleri değişimi

Örnek Çeşidi	Genel Kabul Edilebilirlik			
	Depolama Süresi			
	1	7	14	21
YC	4,14±0,69 ^{abA}	4,14±0,90 ^{aA}	4,43±0,79 ^{aA}	4,14±1,46 ^{abA}
YM	3,00±0,82 ^{cA}	3,14±0,82 ^{bA}	2,57±1,33 ^{bA}	2,57±1,27 ^{cA}
YNS	3,86±0,69 ^{abcA}	3,71±0,95 ^{abA}	3,57±1,13 ^{abA}	3,14±0,69 ^{bcA}
YNSE	3,43±0,79 ^{bcA}	3,57±0,79 ^{abA}	2,71±1,89 ^{bA}	3,14±0,90 ^{bcA}
YNH	4,71±0,49 ^{aA}	4,00±0,82 ^{abAB}	3,71±0,95 ^{abB}	4,43±0,53 ^{aAB}
YNHE	2,71±1,11 ^{abcA}	3,43±1,27 ^{abA}	2,71±1,38 ^{bA}	3,57±0,79 ^{abcA}
En küçük	2,71±1,11	3,14±0,82	2,57±1,33	2,57±1,27
En Büyük	4,71±0,49	4,14±0,90	4,43±0,79	4,43±0,53
Ortalama	3,64±0,77	3,67±0,93	3,26±1,25	3,50±0,94

a; Küçük harfler bir depolama süresindeki örnekler arası istatistiksel olarak farklı grupları belirtmektedir ($p<0.05$)

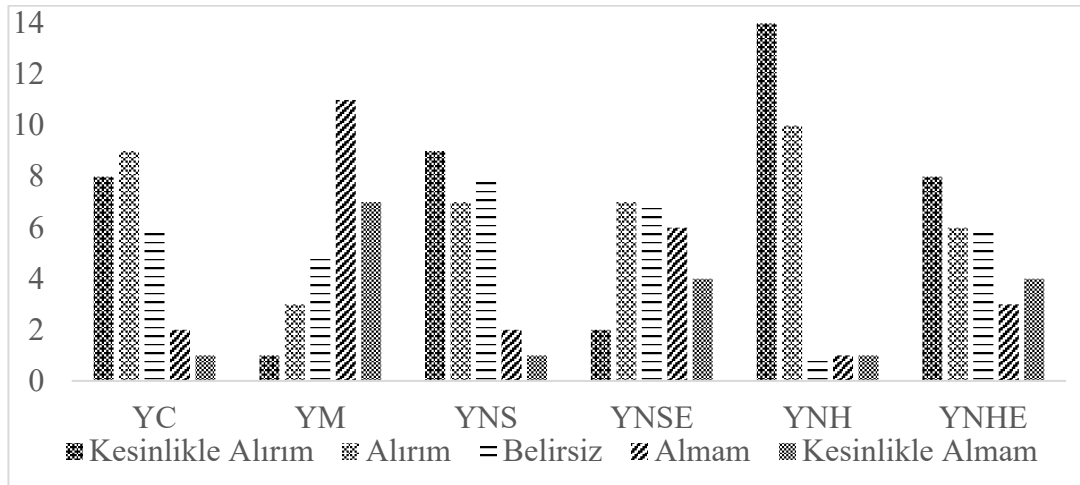
A; Büyük harfler örneklerin her depolama süresindeki istatistiksel olarak farklı gruplarını belirtmektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.61. Duyusal muayene test parametreleri değerlerinin istatistik analizi

Örnek Çeşidi	N	Renk	Görünüş	Kıvam (Kaşıқта)	Kıvam (Ağızda)	Koku	Tat	Duyusal Asitlik	Genel Kabul Edilebilirlik
YC	28	4,82 ^a	4,79 ^a	4,68 ^a	4,39 ^a	4,61 ^a	3,89 ^{ab}	3,50 ^{bc}	4,21 ^a
YM	28	3,75 ^{de}	3,68 ^{de}	4,07 ^{bc}	3,86 ^b	3,57 ^c	3,89 ^c	3,00 ^c	2,79 ^c
YNS	28	4,18 ^{bc}	4,25 ^{bc}	4,43 ^{ab}	4,04 ^{ab}	4,14 ^b	3,93 ^{ab}	3,64 ^{ab}	3,57 ^b
YNSE	28	3,89 ^{cd}	3,89 ^{cd}	4,00 ^c	3,86 ^b	4,00 ^b	3,50 ^b	3,25 ^{bc}	3,21 ^{bc}
YNH	28	4,54 ^{ab}	4,46 ^{ab}	4,14 ^{bc}	3,96 ^b	4,11 ^b	4,18 ^a	4,07 ^a	4,21 ^a
YNHE	28	3,46 ^c	3,32 ^c	3,75 ^c	3,68 ^b	4,04 ^b	3,82 ^{ab}	3,61 ^{ab}	3,25 ^{bc}
Depolama Süresi (gün)									
1.gün	42	3,81 ^b	3,90 ^a	4,07 ^b	3,86 ^b	4,17 ^a	3,81 ^a	3,81 ^a	3,74 ^a
7.gün	42	4,17 ^a	4,07 ^a	3,93 ^b	3,81 ^b	3,98 ^a	3,52 ^a	3,26 ^b	3,64 ^{ab}
14.gün	42	4,24 ^a	4,14 ^a	4,48 ^a	4,19 ^a	4,10 ^a	3,67 ^a	3,26 ^b	3,29 ^b
21.gün	42	4,21 ^a	4,14 ^a	4,24 ^{ab}	4,00 ^{ab}	4,07 ^a	3,81 ^a	3,71 ^a	3,50 ^{ab}
ANOVA									
Örnek Çeşidi		*	*	*	*	*	*	*	*
Depolama Süresi		*	Önemsiz	*	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	*	Önemsiz
Örnek Çeşidi x Depolama Süresi		Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz

Farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)*

Depolamanın 1. gününde renk puanı 3,81 iken 21. gününde 4,21'e yükselmiştir. Kıvam (kaşıkta) puanı ise depolamanın 1. gününde 4,07 iken yine 21. gününde bir artışla 4,24 olmuştur. Duyusal asitlik değerlerinde de düşüş söz konusudur. 1. günde 3,81 olan puan 21. günde 3,71 olmuştur. Duyusal değerlendirmelere göre panelistler, üretilen yoğurtların genel olarak depolama süresi boyunca asitliklerinin artması dolayısıyla ekşi tadın giderek arttığını belirtmişlerdir. *Spirulina* mikroalginin direkt eklendiği YM kodlu yoğurt örneğinin yoğun yosunumsu, aromatik koku ve keskin hissedilen tadından dolayı rahatsızlıklarını ifade eden panelistler en az puan vererek de düşüncelerini desteklemişlerdir. Mikroenkapsülasyon yöntemi ile tat ve koku maskelendiği için enkapsüllü *Spirulina*'larda (YNSE, YNHE) mikroalgin rahatsız edici özellikleri azalmıştır. Nar kabuğu ekstraktlarının eklendiği yoğurtların meyvemsi, aromatik koku ve tadı, parlak rengi ve homojen renk dağılımı panelistlerin tercih sebebi olmuştur. Üretilen bu 6 farklı yoğurt örneği panelistler tarafından depolama süresi boyunca duyusal olarak test edilmiş, en son olarak panelistlere "Satın Alma Niyeti" açısından yoğurtların tercih edilip edilmediği sorulmuştur. Panelistlerce genel olarak beğeni görmüş bu yoğurt örnekleri "Kesinlikle Alırım", "Alırım", "Belirsiz", "Almam" ve "Kesinlikle Almam" şeklinde panelistler tarafından derecelendirilmiştir. Şekil 4.14'te elde edilen tüm sonuçlara göre "Kesinlikle Alırım" şeklinde en çok derecelendirilen yani tüketimi en çok tercih edilen YNH kodlu yoğurt örneği olmuştur. YNS, YNHE ve YC kodlu yoğurt örnekleri de yakın sonuçlar almıştır. "Almam" ve "Kesinlikle Almam" şeklinde en çok YM kodlu yoğurt örneği değerlendirilmiştir.



Şekil 4.14. Üretilen yoğurtların satın alma niyeti

5. SONUÇ

Literatürde yoğurdun düzenli olarak tüketildiğinde insan sağlığı açısından olumlu etkilerinin bulunduğu bilgilere yer verilmektedir. İçeriğindeki protein, mineral ve vitaminlerden dolayı biyoyararlılığı yüksek bir besin olup tüketiminde immün (bağışıklık) sistemini güçlendirmekte, tüm yaş grubu insanlarda sağlıklı ve besleyici ürün olarak bilinmektedir. Tüketici taleplerine cevap vermek adına yoğurt üretiminde de çeşitlilik artmıştır. Günümüzde teknolojinin gelişmesiyle birlikte farklı tekstürel (set, stirred vb.), kimyasal (yağsız, az yağlı, yarım yağlı, tam yağlı) ve duyuşal (doğal, meyveli, katkılı vb.) özellikte yenilikçi yoğurtlar üretilmektedir. Yoğurda katılan doğal gıda ve gıda katkı maddeleri, içeriğini zenginleştirmekte ve besin değerinin artırılmasında olumlu etki yaratmaktadır.

Bu amaçla yapılan değerli çalışmalara ek olarak, bu tezde fonksiyonel yoğurt üretimine yönelik yenilikçi çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada kullanılan proteince zengin *Spirulina* mikroalgi, biyoteknolojik olarak toksik olmayıp biyokimyasal olarak dengeli olduğundan günümüzde tüm dünyada gıda olarak kullanılmaktadır (Cepoi ve diğerleri, 2017). Al-Dhabi (2013)'ün *Spirulina* mikroalginde ağır metal analizi yaptığı çalışmada, çalışılan 25 numunede bulunan Ni, Zn, Hg, Pt, Mg ve Mn içeriğinin tamamının günlük alım seviyeleri içinde olduğundan *Spirulina*'nın güvenli bir şekilde tüketilebileceğini ifade etmiştir (Al-Dhabi, 2013). Günlük hayatta maruz kalınan kimyasalların ya da terapötik amaçla kullanılan ilaçların sebebiyet verdiği doku harabiyetlerinde *Spirulina*'nın iyileştirici, aynı zamanda koruyucu etkisi tespit edilmiştir (Belay, 2002).

Mikroalglerin gıdalara katılması, besleyici ve renklendirici özellikleri ile reolojik açıdan da büyük önem arz etmektedir (Suzery ve diğerleri, 2018). Bu çalışmada, *Spirulina* mikroalgi ile nar kabuğu ekstraktlarının (sulu ve hidroalkolik) immobilizasyonu ile elde edilen mikroenkapsüllerin yoğurdun mevcut besinsel özelliklerinin yanında pozitif bir etki gösterip göstermediği araştırılmıştır. *Spirulina* mikroalgi ve nar kabuğu ekstraktlarını içeren fonksiyonel yoğurtların fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerinde mikroenkapsülasyonun pozitif etkisi görülmüştür. Ayrıca nar kabuğu ekstraktlarında bulunan ellagik asidin mikroenkapsüllerden kontrollü salınımının da incelendiği bu çalışmada üretilen 6 farklı yoğurdun fizikokimyasal, mikrobiyolojik, spektroskopik ve

duyusal/tekstür özelliklerinin depolama koşullarında gösterdiği farklılıklar vurgulanmıştır.

Araştırma bulguları doğrultusunda özetle şunlar söylenebilir;

- ✓ *Spirulina* mikroalginin toplam proteininin belirlenmesi için 2 yöntem çalışılmış, her iki yöntemle de %40 civarında oldukça yüksek bir sonuç elde edilmiştir. *Spirulina* mikroalginin yüksek protein içeriği ve yüzeyindeki heterojenez fonksiyonel gruplardan dolayı ellagik asit ile enkapsülasyonunda avantaj sağladığı görülmüştür. *Spirulina* ekstraktının içeriğinde kromatografik olarak tespit edilen 4 farklı karotenoidden miktarca en yüksek β -kriptoksantin bulunmuştur. Aynı zamanda yüzeyinde tespit edilen heterojenez fonksiyonel gruplar, ellagik asidin *Spirulina* üzerine adsorpsiyonu için Freundlich izoterm modeli ile uygun bulunmuştur.
- ✓ Nar kabuğunun hidroalkolik ve sulu ekstraktları uygun koşullarda elde edilmiş, daha sonra içeriğindeki fenolik bileşiklerin miktarları kromatografik olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın ilk ve en önemli basamağını oluşturan nar kabuğu ekstraktlarının *Spirulina* yüzeyine optimum şekilde mikroenkapsülasyonu için Box-Behnken tasarımı (BBD) ile birleştirilmiş yanıt yüzeyi metodolojisi uygulanmış ve enkapsülasyon başarıyla gerçekleştirilmiştir. Böylece enkapsüle edilen antioksidan maddenin zamana bağlı kullanım ömrü artırılmıştır. Mikroalg yüzeyinde enkapsülasyonu FT-IR, DSC ve SEM analizleriyle ispatlanmıştır. Maksimum mikroenkapsülleme 2 saatte, $56,2 \pm 1,7$ mg/100 mg *Spirulina* maksimum adsorpsiyon kapasitesiyle sonuçlanmıştır. Ellagik asidin fotokimyasal kararlılığı çalışmasında ise, 7 günlük aralıklarla yapılan ölçümler sonucunda yüzeydeki ellagik asit miktarı çok yavaş azalmıştır. Sonuç olarak, mikroenkapsülasyonun; ellagik asidin kararlılığını korumak için iyi bir yöntem olduğu düşünülmüştür. Daha sonra enkapsüllerin serbest bırakma kinetiğini incelemek için enkapsüle edilen antioksidan maddenin *in vitro* sindirimi ve mikroalg yüzeyinden kontrollü salınımı, gastrointestinal koşullarda mide ve bağırsak sıvısının simülasyonu ile gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Nar kabuğu ekstraktlarının, ekstraktlı mikroenkapsüllerin ve mikroalgin direkt eklenerek üretildiği 6 farklı yoğurt örneği fizikokimyasal, mikrobiyolojik,

spektroskopik ve duyuşal/tektür özellikleri bakımından değerdendirilmiştirdir. *Spirulina* mikroalginin yoğurda eklenmesiyle protein seviyesinin daha da arttığı gözlemlenmiş, dolayısıyla tüketiminde insan sağlığı açısından fayda sağlayacağı düşünölmüştür. Aynı zamanda yüksek antioksidan özelliğı ile katıldığı yoğurda antioksidan özellik de kazandırmıştır. Protein dışındaki değerdli besin öğelerini içermesi ve doğal kaynaklı bir ürün olması nedeniyle sentetik katkı maddelerine alternatif bir çözüm olabilecektir. Mikroalg-antioksidan çiftinin, yoğurt depolama koşullarına etkisi de belirlenmiştir.

- ✓ Duyusal analiz sonuçlarında genel itibariyle beğenilerin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan değerdendirme neticesinde, kapsülleme ile müşteri memnuniyetinin artabileceğı düşünölmüştür. Mikroalglerin renk ve aroması mikroenkapsölasyon yöntemi ile maskelenmiş olup, süt ürünlerinde mikroalglerin kullanımı açısından gelecek vaat eden bir çalışma olduğu sonucuna varılmıştır. Yeşil renkte elde edilen mikroalgli yoğurtlar faydalı besinsel içeriğinin yanında tüketici tarafından görsel olarak da cezbedici olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Aceituno-Medina, M., Mendoza, S., Rodríguez, B. A., Lagaron, J. M. ve López-Rubio, A. (2015). Improved antioxidant capacity of quercetin and ferulic acid during in-vitro digestion through encapsulation within food-grade electrospun fibers. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.11.028>
- Adil, I. H., Yener, M. E. ve Bayındırlı, A. (2008). Extraction of total phenolics of sour cherry pomace by high pressure solvent and subcritical fluid and determination of the antioxidant activities of the extracts. *Separation Science and Technology*. <https://doi.org/10.1080/01496390801888243>
- Akalın, A. S., Ünal, G. ve Dalay, M. C. (2009). Influence of *Spirulina platensis* biomass on microbiological viability in traditional and probiotic yoghurts during refrigerated storage. *Italian Journal of Food Science*.
- Al-Dhabi, N. A. (2013). Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.006>
- Al-Saif, S. S. A., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H. A. ve Aref, I. A. (2014). Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.06.001>
- Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.002>
- Alizadeh Khaledabad, M., Ghasempour, Z., Moghaddas Kia, E., Rezazad Bari, M. ve Zarrin, R. (2020). Probiotic yoghurt functionalised with microalgae and Zedo gum: chemical, microbiological, rheological and sensory characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 67–75. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12625>
- Aloğlu, H. Ş. ve Öner, Z. (2010). Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Mikroenkapsülasyon Teknolojisinde Kaplama Materyali Olarak Kullanım Olanakları Potential Use of Whey Proteins as a Coating Material in Microencapsulation Technology. *Akademik Gıda*, 8(3), 38–42.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>
- Atamer, M., Yetişmeyen, A. ve Alpar, O. (1986). Farklı Isı Uygulamalarının İnek Sütlerinden Üretilen Yoğurtların Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. İçinde *A.Ü. Ziraat Fakültesi* (C. 11, Sayı 1, ss. 22–28).
- Augustin, M. A. ve Hemar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. İçinde *Chemical Society Reviews*. <https://doi.org/10.1039/b801739p>
- Aviram, M. ve Dornfeld, L. (2001). Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*, 158(1), 195–198. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(01\)00412-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00412-9)
- Bakırcı, İ., Tohma, G. Ş. ve Yüksel, A. K. (2015). Erzurum Piyasas ı nda Sat ı sa Sunulan Yoğurtların Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özelliklerinin İncelenmesi. *Akademik Gıda*, 13(2), 127–134.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrach, B., Mechichi, T., Ayadi,

- M. A., Fendri, I., Attia, H. ve Abdelkafi, S. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yoghurt during fermentation and storage. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.071>
- Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Haratian, P. ve Darani, K. K. (2012). Erratum to Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yoghurt and its biochemical properties (Eur Food Res Technol, 10.1007/s00217-012-1798-4). *European Food Research and Technology*, 235(6), 1213. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1843-3>
- Belay, A. (2002). The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health A Peer-Reviewed Journal on Nutraceuticals and Nutrition The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a Nutritional and. *The Journal of the American Nutraceutical Association*, 5(2), 27–48.
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. ve Shimamatsu, H. (1993). Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology*, 5(2), 235–241. <https://doi.org/10.1007/BF00004024>
- Bellumori, M., Innocenti, M., Binello, A., Boffa, L., Mulinacci, N. ve Cravotto, G. (2016). Selective recovery of rosmarinic and carnosic acids from rosemary leaves under ultrasound-and microwave-assisted extraction procedures. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 699–706. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2015.12.013>
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. ve Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yoghurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(3–4), 180–186. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900504>
- Betz, M. ve Kulozik, U. (2012). Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. *Procedia Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.10.006>
- Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E. ve Kulozik, U. (2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.010>
- Brownlee, I. A., Allen, A., Pearson, J. P., Dettmar, P. W., Havler, M. E., Atherton, M. R. ve Onsøyen, E. (2005). Alginate as a source of dietary fiber. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408390500285673>
- Bruschi, M. L., Cardoso, M. L. C., Lucchesi, M. B. ve Gremião, M. P. D. (2003). Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: Preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00386-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00386-7)
- Bulut-Solak, B. ve Akın, N. (2012). Yoğurt çeşitleri, yoğurtlarda görülen bazı kusurlar ve çözüm önerileri. *Academic Food Journal*, 10(2), 115–120.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Carocho, M., Oliveira, M. B. P. P. ve Ferreira, I. C. F. R. (2016). Fortification of yoghurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, 210, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114>
- Cano-Lamadrid, M., Viuda-Martos, M., García-Garvı, J. M., Clemente-Villalba, J., Carbonell-Barrachina, Á. A. ve Sendra, E. (2020). Polyphenolic Profile and Antimicrobial Potential of Peel Extracts Obtained from Organic Pomegranate (*Punica granatum* L.) Variety “Mollar De Elche”. *Acta Horticulturae et Regiotecturae*. <https://doi.org/10.2478/ahr-2020-0001>

- Capela, P., Hay, T. K. C. ve Shah, N. P. (2006). Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Research International*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.007>
- Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., Campos, S., Torres, M. A., Souza, A. O., Colepicolo, P. ve Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with economical impact. İçinde *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.05.007>
- Cepoi, L., Chiriac, T., Rudi, L., Djur, S., Zosim, L., Bulimaga, V., Batir, L., Elenciuc, D. ve Rudic, V. (2017). *Spirulina* as a Raw Material for Products Containing Trace Elements. İçinde *Recent Advances in Trace Elements*.
<https://doi.org/10.1002/9781119133780.ch19>
- Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L. ve Bourges, H. (1996). Pharmacology and toxicology of *Spirulina* alga. *Revista de investigación clínica*.
- Chapman, R. L. ve Buchheim, M. A. (1992). Green algae and the evolution of land plants: inferences from nuclear-encoded rRNA gene sequences. *BioSystems*.
[https://doi.org/10.1016/0303-2647\(92\)90015-Q](https://doi.org/10.1016/0303-2647(92)90015-Q)
- Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S. ve Sumnu, G. (2012). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: Effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *European Food Research and Technology*, 235(4), 587–596. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1786-8>
- Çam, M., Hışıl, Y. ve Durmaz, G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.009>
- Çam, M., İçyer, N. C. ve Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 117–123.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011>
- Dag, D., Kilercioglu, M. ve Oztop, M. H. (2017). Physical and chemical characteristics of encapsulated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice powder. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.007>
- Dannenbergh, F. ve Kessler, H.-G. (1988). *Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. 2. firmness and flow properties*. Milchwissenschaft-Milk Science International.
- De Souza Neves Ellendersen, L., Granato, D., Bigetti Guergoletto, K. ve Wosiacki, G. (2012). Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. *Engineering in Life Sciences*.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201100136>
- Dewi, E. N., Purnamayati, L. ve Kurniasih, R. A. (2017). Physical characteristics of phycocyanin from *Spirulina* microcapsules using different coating materials with freeze drying method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012060>
- Díaz-Bandera, D., Villanueva-Carvajal, A., Dublán-García, O., Quintero-Salazar, B. ve Dominguez-Lopez, A. (2013). Release kinetics of antioxidant compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. encapsulated in gelatin beads and coated with sodium alginate. *International Journal of Food Science and Technology*.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12199>

- Domozych, D. S. (2011). Algal Cell Walls. İçinde *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000315.pub3>
- Dönmez, Ö., Mogol, B. A. ve Gökmen, V. (2017). Syneresis and rheological behaviors of set yoghurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11262>
- Fang, R., Hao, R., Wu, X., Li, Q., Leng, X. ve Jing, H. (2011). Bovine serum albumin nanoparticle promotes the stability of quercetin in simulated intestinal fluid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf200718j>
- Fawole, O. A. ve Opara, U. L. (2016). Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to in vitro digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1343-2>
- Flores, F. P., Singh, R. K., Kerr, W. L., Pegg, R. B. ve Kong, F. (2014). Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.063>
- Guldas, M. ve Irkin, R. (2010). Influence of *Spirulina platensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk. *Mljekarstvo*.
- Gupta, S. Sen, Ghosh, S., Maiti, P. ve Ghosh, M. (2012). Microencapsulation of conjugated linolenic acid-rich pomegranate seed oil by an emulsion method. *Food Science and Technology International*, 18(6), 549–558. <https://doi.org/10.1177/1082013211433078>
- Ha, H. K., Kim, J. W., Lee, M. R. ve Lee, W. J. (2013). Formation and characterization of quercetin-loaded chitosan oligosaccharide/ β -lactoglobulin nanoparticle. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.021>
- Harwalkar, V. R. ve Kalab, M. (1986). Relationship between microstructure and susceptibility to syneresis in yoghurt made from reconstituted non-fat dry milk. *Food Microstructure*.
- Hegazi, F. Z. ve Abo-Elnaga, I. G. (1990). Dissimilation of organic acids by dairy lactic acid bacteria. *Food / Nahrung*. <https://doi.org/10.1002/food.19900340905>
- Herrero, M., Mendiola, J. A., Plaza, M. ve Ibañez, E. (2012). Screening for bioactive compounds from algae. İçinde *Advanced Biofuels and Bioproducts* (C. 9781461433, ss. 833–872). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4_35
- Hongyu, W., Hulbert, G. J. ve Mount, J. R. (2001). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yoghurt starter. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(3), 211–218. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00020-5)
- Imhof, R., Glättli, H. ve Bosset, J. O. (1994). Volatile organic aroma compounds produced by thermophilic and mesophilic mixed strain dairy starter cultures. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1090>
- Işık, E., Şahin, S. ve Demir, C. (2013). Development of a new chromium reducing antioxidant capacity (CHROMAC) assay for plants and fruits. *Talanta*, 111, 119–124. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2013.02.053>
- Jackson, L. S. ve Lee, K. (1991). Microencapsulation and the food industry. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*.
- Jafari, Y., Sabahi, H. ve Rahaie, M. (2016). Stability and loading properties of curcumin encapsulated in *Chlorella vulgaris*. *Food Chemistry*, 211, 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.115>

- Jafri, M. A., Aslam, M., Javed, K. ve Singh, S. (2000). Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 309–314. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00170-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00170-1)
- Jorge, A. J., De La Garza, T. H., Alejandro, Z. C., Ruth, B. C. ve Noé, A. C. (2013). The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60093-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60093-3)
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*.
- Karaş, M., Jakubczyk, A., Szymanowska, U., Złotek, U. ve Zielińska, E. (2017). Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. İçinde *International Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13323>
- Kaur, C. ve Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables - The millennium's health. İçinde *International Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2001.00513.x>
- Kearney, N., Stanton, C., Desmond, C., Coakley, M., Collins, J. K., Fitzgerald, G. ve Ross, R. P. (2008). Challenges associated with the development of probiotic-containing functional foods. İçinde *Handbook of Fermented Functional Foods, Second Edition*.
- Kittikaiwan, P., Powthongsook, S., Pavasant, P. ve Shotipruk, A. (2007). Encapsulation of *Haematococcus pluvialis* using chitosan for astaxanthin stability enhancement. *Carbohydrate Polymers*, 70(4), 378–385. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.04.021>
- Kınık, Ö., Kavas, G. ve Yılmaz, E. (2003). Mikroenkapsülasyon Tekniği ve Süt teknolojisindeki Kullanım Olanakları. İçinde *Gıda* (C. 28, Sayı 4, ss. 401–407).
- Koç, M., Sakin, M. ve Kaymak-Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*.
- Kropat, C., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Boettler, U., Teller, N. ve Marko, D. (2013). Effect of microformulation on the bioactivity of an anthocyanin-rich bilberry pomace extract (*Vaccinium myrtillus* L.) in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf305180j>
- Lauber, S., Klostermeyer, H. ve Henle, T. (2001). On the influence of non-enzymatic crosslinking of caseins on the gel strength of yoghurt. *Nahrung - Food*. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20010601\)45:3<215::aid-food215>3.3.co;2-t](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20010601)45:3<215::aid-food215>3.3.co;2-t)
- Lee, Y. K., Al Mijan, M., Ganesan, P., Yoo, S. ve Kwak, H. S. (2013). The physicochemical properties of yoghurt supplemented with microencapsulated peanut sprout extract, a possible functional ingredient. *International Journal of Dairy Technology*, 66(3), 417–423. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12047>
- Leick, S., Kemper, A. ve Rehage, H. (2011). Alginate/poly-l-lysine capsules: Mechanical properties and drug release characteristics. *Soft Matter*. <https://doi.org/10.1039/c1sm05676j>
- Li, H. Bin, Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F. ve Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.022>
- Li, F., Yang, L., Zhao, T., Zhao, J., Zou, Y., Zou, Y. ve Wu, X. (2012). Optimization of

- enzymatic pretreatment for n-hexane extraction of oil from *Silybum marianum* seeds using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.02.010>
- Li, M. K. ve Fogler, H. S. (1978). Acoustic emulsification. Part 2. Breakup of the large primary oil droplets in a water medium. *Journal of Fluid Mechanics*, 88(3), 513–528. <https://doi.org/10.1017/S0022112078002244>
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. ve Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>
- Liu, Y., Wei, S., Liao, M., Liu, L. ve Huang, Y. (2015). Self-assembly of glycinin nanoparticles for delivery of phenolic compounds from *Phyllanthus urinaria*. *RSC Advances*, 5(8), 5533–5541. <https://doi.org/10.1039/c4ra14136a>
- Lucey, J. A. (2002). Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74078-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74078-2)
- Mahavidyalaya, N. M. (2019). *Microencapsulation of Almond Oil and Its. 1*, 847–852.
- Mahdi Jafari, S., He, Y. ve Bhandari, B. (2006). Nano-emulsion production by sonication and microfluidization - A comparison. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 475–485. <https://doi.org/10.1080/10942910600596464>
- Malik, A., Afaq, F., Sarfaraz, S., Adhami, V. M., Syed, D. N. ve Mukhtar, H. (2005). Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505870102>
- Markou, G. ve Nerantzis, E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *İçinde Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>
- Martins, A., Barros, L., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I. P., Barreiro, F. ve Ferreira, I. C. F. R. (2014). Phenolic extracts of *Rubus ulmifolius* Schott flowers: Characterization, microencapsulation and incorporation into yoghurts as nutraceutical sources. *Food and Function*, 5(6), 1091–1100. <https://doi.org/10.1039/c3fo60721f>
- McCourt, R. M. (1995). Green algal phylogeny. *İçinde Trends in Ecology ve Evolution*. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)89027-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)89027-8)
- Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M. ve Balasubramanian, T. (2011). In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60126-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60126-3)
- Naczki, M. ve Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography. A*.
- Neve, H., Lorenzen, P. C., Mautner, A., Schlimme, E. ve Heller, K. J. (2001). Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt: Microbiological aspects. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 53(4), 349–359.
- Nizamlioğlu, N. M. ve Nas, S. (2010). Meyve ve Sebze lerde Bulunan Fenolik Bileşikler ; Yapıları ve Önemleri. *Elektronik*, 2010(1), 20–35.
- Nourmohammadi, N., Soleimani-Zad, S. ve Shekarchizadeh, H. (2020). Effect of *Spirulina (Arthrospira platensis)* microencapsulated in alginate and whey protein concentrate addition on physicochemical and organoleptic properties of functional stirred yoghurt. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.10576>

- O'Connell, J. E. ve Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: A review. İçinde *International Dairy Journal*. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00033-4)
- Oğur, S. (2016). Kurutulmuş alglerin besin değeri ve gıda olarak kullanımı. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(1), 59. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2016.33.1.10>
- Özdemir, N. ve Erkmen, J. (2013). Yenilenebilir Biyoplastik Üretiminde Alglerin Kullanımı Use of Algae in Production of Renewable Bioplastics. *The Black Sea Journal of Sciences*, 3(8), 89–104.
- Özer, H. B. (2006). *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi* (1. baskı). Sidas Medya Ltd. Şti.
- Panichayupakaranant, P., Tewtrakul, S. ve Yuenyongsawad, S. (2010). Antibacterial, anti-inflammatory and anti-allergic activities of standardised pomegranate rind extract. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.054>
- Patel, A. R., Heussen, P. C. M., Hazekamp, J., Drost, E. ve Velikov, K. P. (2012). Quercetin loaded biopolymeric colloidal particles prepared by simultaneous precipitation of quercetin with hydrophobic protein in aqueous medium. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.054>
- Pearse, M. J. ve Mackinlay, A. G. (1989). Biochemical Aspects of Syneresis: A Review. İçinde *Journal of Dairy Science*. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79247-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79247-X)
- Peña, W. E. L., de Andrade, N. J., Soares, N. F. F., Alvarenga, V. Ô. O., Rodrigues Junior, S., Granato, D., Giraldo Zuniga, A. D. ve de Souza Sant'Ana, A. (2014). Modelling *Bacillus cereus* adhesion on stainless steel surface as affected by temperature, pH and time. *International Dairy Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.08.006>
- Pu, C. ve Tang, W. (2017). Encapsulation of lycopene in *Chlorella pyrenoidosa*: Loading properties and stability improvement. *Food Chemistry*, 235, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.069>
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. ve Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(7), 1386–1394. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x>
- Rodsamran, P. ve Sothornvit, R. (2018). Microencapsulation of Thai rice grass (*O. Sativa* cv. Khao Dawk Mali 105) extract incorporated to form bioactive carboxymethyl cellulose edible film. *Food Chemistry*, 242, 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.064>
- Saikia, S., Mahnot, N. K. ve Mahanta, C. L. (2015). Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.064>
- Sariburun, E., Şahin, S., Demir, C., Türkben, C. ve Uylaşer, V. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01571.x>
- Saura-Calixto, F., Serrano, J. ve Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>

- Schantz, M., Berg, S., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Schwarz, K., Baum, M. ve Richling, E. (2014). Triggered gastrointestinal release of anthocyanins from bilberries (*vaccinium myrtillus* L.). *Acta Horticulturae*, 1017, 381–386. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1017.46>
- Schrooyen, P. M. M., Meer, R. van der ve Kruif, C. G. De. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(4), 475–479. <https://doi.org/10.1079/pns2001112>
- Senaka Ranadheera, C., Evans, C. A., Adams, M. C. ve Baines, S. K. (2012). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yoghurts made from goat's milk. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.025>
- Serafeimidou, A., Zlatanov, S., Kritikos, G. ve Tourianis, A. (2013). Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yoghurt made of cow and sheep milk. *Journal of Food Composition and Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.011>
- Serrano-Cruz, M. R., Villanueva-Carvajal, A., Morales Rosales, E. J., Ramírez Dávila, J. F. ve Dominguez-Lopez, A. (2013). Controlled release and antioxidant activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract encapsulated in mixtures of carboxymethyl cellulose, whey protein, and pectin. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.013>
- Sharif, K. M., Rahman, M. M., Azmir, J., Mohamed, A., Jahurul, M. H. A., Sahena, F. ve Zaidul, I. S. M. (2014). Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. *Journal of Food Engineering*. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.003>
- Shin, Yu-Mi; Son, Chan-Wok; Sim, Hyun-Jung; Kim, Min-Hee; Kim, Mi-Yeon; Kwon, Oh-Yun; Kim, M.-R. (2008). Quality Characteristics and Antioxidant Activity of *Spirulina* added Yoghurt. *Korean journal of food and cookery science*, Korean J. food Cook. Sci. <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200817959501916.pdf>
- Shori, A. B. ve Baba, A. S. (2014). Comparative antioxidant activity, proteolysis and in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition of *Allium sativum*-yoghurts made from cow and camel milk. *Journal of Saudi Chemical Society*. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.09.014>
- Silva, M. B. (2016). Percepção da população assistida sobre a inserção de estudantes de medicina na Unidade Básica de Saúde. *Trabalho de conclusão de curso*, 1(9), 1–10. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A. ve Singh, N. (2018). Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.039>
- Siracusa, L., Kulisic-Bilusic, T., Politeo, O., Krause, I., Dejanovic, B. ve Ruberto, G. (2011). Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after submission to a two-step in vitro digestion model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf203096q>
- Small, E. (2011). 37. *Spirulina* - food for the universe. *Biodiversity*. <https://doi.org/10.1080/14888386.2011.642735>
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. ve Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch

- and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1–2), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00380-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00380-9)
- Suzery, M., Hadiyanto, Sutanto, H., Soetrisnanto, D., Majid, D., Setyawan, D. ve Azizah, N. (2015). The improvement of phycocyanin stability extracted from *Spirulina* sp using extrusion encapsulation technique. *AIP Conference Proceedings*, 1699. <https://doi.org/10.1063/1.4938296>
- Suzery, M., Hadiyanto, Sutanto, H., Widiastuti, Y. ve Judiono. (2018). Improvement the Yoghurt Nutritional Value, Organoleptic Properties and Preferences by *Spirulina* (*Spirulina platensis*) Supplementation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 349(1), 0–7. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012040>
- Şahin, S., Aybastier, Ö. ve Demir, C. (2016). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Quercetin and Cyanidin from *Pyracantha Coccinea* and Their Scavenging Effect on Free Radicals. *Journal of Food Biochemistry*. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12236>
- Şahin, S., Işık, E., Aybastier, Ö. ve Demir, C. (2012). Orthogonal signal correction-based prediction of total antioxidant activity using partial least squares regression from chromatograms. *Journal of Chemometrics*, 26(7), 390–399. <https://doi.org/10.1002/CEM.2450>
- Şahin, S., Oran, S., Şahintürk, P., Demir, C. ve Öztürk, Ş. (2015). Ramalina lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Food Biochemistry*, 39(4), 471–477. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12142>
- Şengül, M., Erkaya, T., Şengül, M. ve Yıldız, H. (2012). The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 429–436. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2012.00838.x>
- Şimşek, B., Gün, I. ve Çelebi, M. (2010). *Isparta Yöresinde Üretilen Süzme Yoğurtların Protein Profilleri ve Bunların Kimyasal Özelliklerle İlişkisi Protein Profiles of Concentrated Yoghurts Produced in Isparta and Burdur ... Isparta Yöresinde Üretilen Süzme Yoğurtların Protein Profilleri*.
- Tamime, A. Y. ve Robinson, R. K. (1999). Yoghurt-Science and Technology, 2nd ed. By A Y Tamime and R K Robinson. İçinde *International Journal of Dairy Technology* (C. 52, Sayı 4). <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1999.tb02857.x>
- Thornhill, P. J. ve Cogan, T. M. (1984). Use of gas-liquid chromatography to determine the end products of growth of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(6), 1250–1254. <https://doi.org/10.1128/aem.47.6.1250-1254.1984>
- Toxicology, A. C. of. (2002). Final Report on the Safety Assessment of BHT 1. Toxicology, A. C. of. Final Report on the Safety Assessment of BHT 1. Int. J. Toxicol. 21, 19–94 (2002).ment of BHT 1. *International journal of Toxicology*. <https://doi.org/10.1080/1091581029009651>
- Ünal, E. ve Erginkaya, Z. (2010). PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN MİKROENKAPSÜLASYONU. *Derleme / Review GIDA*.
- Vázquez, A. I. F., Sánchez, C. M. D., Delgado, N. G., Alfonso, A. M. S., Ortega, Y. S. ve Sánchez, H. C. (2011). Anti-inflammatory and analgesic activities of red seaweed *Dichotomaria obtusata*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000100014>
- Xu, J., Wang, W., Liang, H., Zhang, Q. ve Li, Q. (2015). Optimization of ionic liquid

- based ultrasonic assisted extraction of antioxidant compounds from *Curcuma longa* L. using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.025>
- Yadav, K., Bajaj, R. K., Mandal, S., Saha, P. ve 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. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12464>
- Yaygın, H. (1999). *Yoğurt Teknolojisi*. Akdeniz Üniversitesi Basımevi.
- Yim, H. S., Chye, F. Y., Koo, S. M., Matanjun, P., How, S. E. ve Ho, C. W. (2012). Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. *Food and Bioprocess Processing*. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.04.001>
- Zam, W., Bashour, G., Abdelwahed, W. ve Khayata, W. (2014). Alginate-pomegranate peels' polyphenols beads: Effects of formulation parameters on loading efficiency. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(4), 741–748. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502014000400009>
- Zhang, T., Lv, C., Chen, L., Bai, G., Zhao, G. ve Xu, C. (2014). Encapsulation of anthocyanin molecules within a ferritin nanocage increases their stability and cell uptake efficiency. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.041>
- Zourari, A., Accolas, J. P. ve Desmazeaud, M. J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. *Le Lait*, 72(1), 1–34. <https://doi.org/10.1051/lait:199211>