



T.C  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARA MÜRVER (*SAMBUCUS NİGRA*)  
ANTOSİYANİNLERİNİN, *BACILLUS COAGULANS* VE İNÜLİN  
İLAVELİ PEYNİR ALTI SUYU İÇECEKLERİNDE KULLANIMI**

**Elif Büşra ÖZGÜR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**Danışman**

**Prof. Dr. Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU**

**BURDUR-2023**

T.C  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARA MÜRVER (*SAMBUCUS NİGRA*)  
ANTOSİYANİNLERİNİN, *BACİLLUS COAGULANS* VE İNÜLİN  
İLAVELİ PEYNİR ALTI SUYU İÇECEKLERİNDE KULLANIMI**

**Elif Büşra ÖZGÜR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU**

Bu Araştırma '*Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü*' tarafından '0806-YL-22' proje numarası ile desteklenmiştir.

**BURDUR-2023**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince bana her konuda destek veren, bilgilerini, tavsiyelerini ve ihtiyaç duyduğum her anda yardımlarını benden esirgemeyen, öğrencisi olmaktan büyük bir mutluluk duyduğum çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU'na, yine bu süreç boyunca kıymetli bilgi ve becerilerini benimle paylaşarak tez çalışmamı yürütmemde destek olan Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Özen YURDAKUL başta olmak üzere Anabilim Dalında yer alan bütün hocalarıma, araştırmalarımı yürüttüğüm süreçte bilgi, tecrübe ve yardımlarını benden sakınmayan Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN'e, Dr. Öğr. Üyesi Seyit YÜZÜAK'a, çalışma hayatım ve tez sürecimin birlikte ve iyi bir şekilde ilerlemesinde bana olan güven ve inancı için Karamanlı Kaymakamı Sayın Emirhan ARIKAN'a ve tez sürecimde beni cesaretlendirerek elini hep omzumda hissettiren çok değerli Karamanlı Yazı İşleri Müdürü Meryem ONUR'a, akademik hayata ilk adım attığım günden itibaren sevgi ve anlayışlarını sürekli hissettiğim, tez sürecinde emek ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Jerina Rugji'ye, Zühal ÇALIŞKAN'a, Zübeyde POLAT'a, Melike Sultan USLUER'e, Erkan ERLER'e, bugünlere gelmemde maddi ve manevi destekleriyle hep daha iyilerini başarabileceğimi bana sürekli hatırlatan, yorulduğum zamandalarda bir dakika bile olsa seslerini duyduğumda enerjimi yerine getiren annem Huriye KADAYİFCİOĞLU'na, babam Ali KADAYİFCİOĞLU'na ve tüm aileme, yüksek lisans sürecimde ve tez çalışmamda olduğu gibi tüm hayatımda da en büyük destekçim sevgili eşim Mustafa ÖZGÜR'e teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TÜRKÇE ÖZET	xv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KARA MÜRVER	3
2.1.1. Kara Mürver Meyvesinin İçeriği	4
2.2. Antosiyaninler	6
2.2.1. Antosiyaninlerin İnsan Sağlığına Etkileri	7
2.2.2. Antosiyaninlerin Elde Edilme Yöntemleri (Ekstraksiyon)	10
2.2.3. Superkritik CO <sub>2</sub> Ekstraksiyonu (SCE) ile Antosiyanin Eldesi	12
2.2.4. Antosiyaninlerin Biyoyararlanımı	13
2.2.5. Antosiyaninlerin Stabilitesi ve Biyolojik Erişilebilirliği	15
2.2.6. Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu	17
2.3. Probiyotikler	19
2.3.1. <i>Bacillus Coagulans</i>	19
2.4. Prebiyotikler	21
2.4.1. İnülin	22
2.5. Fonksiyonel Gıdalar	23
2.6. Antosiyanin-Whey kompleksi	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.2. Yöntem	26
3.2.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler	26
3.2.1.1. Kara Mürverin Meyvesinin Elde Edilmesi ve Kullanıma Uygun Hale Getirilmesi	26
3.2.1.2. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı Tayini	27
3.2.1.3. Kara Mürverden ( <i>Sambucus Nigra</i> ) Antosiyanin Ekstraksiyonu	28
3.2.1.4. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarının Tespiti	30
3.2.1.5. Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu	30
3.2.1.6. Enkapsülasyon Verimliliğinin Saptanması	31
3.2.1.7. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi	31
3.2.1.8. İnokulasyon Kültürünün ( <i>Bacillus Coagulans</i> ) Hazırlanması	31
3.2.1.9. Peynir Altı Suyu İçeceğinin Hazırlanması ve Bileşenlerin İlavesi	32
3.2.2. Üretim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler	33
3.2.2.1. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceğindeki Antosiyanin Miktarının Tespiti	33

3.2.2.2. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceğiindeki Enkapsülenmiş Antosiyaninlerin Kararlılığının Belirlenmesi	33
3.2.2.3. Mikrobiyolojik Analizler	34
3.2.2.3.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri (TMAB) Sayımı	34
3.2.2.3.2. Toplam Psikrofil Aerob Bakteri (TPAB) Sayımı	34
3.2.2.3.3. Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı	35
3.2.2.3.4. Maya ve Küflerin Sayımı	35
3.2.2.3.5. <i>Bacillus Coagulans</i> Sayımı	35
3.2.2.4. Fiziko-Kimyasal Analizler	35
3.2.2.4.1. Toplam Azot ve Protein Oranının Belirlenmesi	35
3.2.2.4.2. Titrasyon Asitliği	35
3.2.2.4.3. pH Tayini	36
3.2.2.4.4. Antioksidan Kapasite Tayini	36
3.2.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Tayini	37
3.2.2.4.6. Viskozite Tayini	37
3.2.2.4.7. Renk Tayini	37
3.2.2.5. Duyusal Analizler	37
3.2.2.6. İstatistiksel Analizler	38
<b>4. BULGULAR</b>	<b>39</b>
4.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler	39
4.1.1. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı	39
4.1.2. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarı	39
4.1.3. Enkapsülasyon Verimliliği	39
4.1.4. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analiz Sonuçları	39
4.2. Üretim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler	40
4.2.1. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceklerindeki Antosiyanin Miktarı	40
4.2.2. Deneysel PAS İçeceğiindeki Enkapsülenmiş Antosiyaninlerin Kararlılıkları	41
4.2.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	42
4.2.3.1. TMAB Miktarı	42
4.2.3.2. TPAB Miktarı	42
4.2.3.3. Koliform Grubu Bakteri Miktarı	43
4.2.3.4. Maya ve Küflerin Miktarı	43
4.2.3.5. <i>Bacillus Coagulans</i> Miktarı	43
4.2.4. Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları	48
4.2.4.1. Toplam Protein Oranları	48
4.2.4.2. Titrasyon Asitliği Değerleri	48
4.2.4.3. pH Değerleri	49
4.2.4.4. Antioksidan Kapasite Miktarı	50
4.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Miktarı	51
4.2.4.6. Viskozite Düzeyleri	52
4.2.4.7. Renk Değerleri	53
4.2.5. Duyusal Analiz Sonuçları	54
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>58</b>
5.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler	58
5.1.1. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı	58

5.1.2. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarı	58
5.1.3. Enkapsülasyon Verimliliği	59
5.1.4. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin SEM Analizi	61
5.2. Üretim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler	62
5.2.1. Deneysel PAS İçeceklerindeki Antosiyanin Miktarı	62
5.2.2. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceğindeki Enkapsülenmiş Antosiyaninlerin Kararlılıkları	63
5.2.3. Mikrobiyolojik Analizler	66
5.2.3.1. TMAB Miktarı	66
5.2.3.2. TPAB Miktarı	67
5.2.3.3. Koliform Grubu Bakteri Miktarı	68
5.2.3.4. Maya-küf Miktarı	69
5.2.3.5. <i>Bacillus Coagulans</i> Miktarı	70
5.2.4. Fiziko-Kimyasal Analizler	71
5.2.4.1. Toplam Azot ve Protein Oranları	71
5.2.4.2. Titrasyon Asitliği Değerleri	72
5.2.4.3. pH Değeri	73
5.2.4.4. Antioksidan Kapasite Miktarı	74
5.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Oranı	75
5.2.4.6. Viskozite Düzeyleri	76
5.2.4.7. Renk Değerleri	77
5.2.5. Duyusal Değerlendirmeler	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	81
KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	106

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Mürver antosiyaninlerinin kimyasal yapısı	8
Şekil 3.1.	Toplanan kara mürver meyveleri	24
Şekil 3.2.	Üç kademeli süperkritik CO <sub>2</sub> sistemi	26
Şekil 3.3.	Sıvı CO <sub>2</sub> akış pompası	26
Şekil 3.4.	Ekstraksiyon sonucunda elde edilen antosiyanin özütü	27
Şekil 3.5.	Hücre Densitometresi	29
Şekil 4.1.	Dondurarak kurutma ile enkapsüle edilen antosiyaninlerin SEM görüntüleri	37
Şekil 4.2.	Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen TMAB düzeyi	42
Şekil 4.3.	Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen TPAB düzeyi	43
Şekil 4.4.	Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen maya-küf düzeyi	43
Şekil 4.5.	Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen <i>B. coagulans</i> düzeyi	44
Şekil 4.6.	Muhafaza süresince PAS içeceklerinin titrasyon asitliğindeki değişimler	46
Şekil 4.7.	Muhafaza süresince PAS içeceklerinin pH değerlerindeki değişimler	47
Şekil 4.8.	PAS içeceklerin farklı dönüş hızlarında (rpm) gösterdiği viskozite değerleri	49

## TABLÖLAR

<b>Tablo 2.1.</b>	Bazı besin kaynaklarına uygulanan antosiyanin ekstraksiyon yöntemleri	<b>9</b>
<b>Tablo 3.1.</b>	Deneyisel peynir altı suyu içeceği grupları	<b>30</b>
<b>Tablo 4.1.</b>	Kara mürver meyvelerinin nem ve kuru madde değerleri	<b>36</b>
<b>Tablo 4.2.</b>	Peynir altı suyu içeceklerinin antosiyanin miktarları (mg/L)	<b>38</b>
<b>Tablo 4.3.</b>	Peynir altı suyu içecek gruplarındaki antosiyanin kayıpları	<b>39</b>
<b>Tablo 4.4.</b>	Peynir altı suyu içecek gruplarındaki mikrobiyolojik analiz sonuçları ( $\log_{10}$ kob/mL)	<b>41</b>
<b>Tablo 4.5.</b>	Peynir altı suyu içecek gruplarındaki protein oranları (%)	<b>44</b>
<b>Tablo 4.6.</b>	İçecek gruplarının titrasyon asitliği ve pH sonuçları	<b>45</b>
<b>Tablo 4.7.</b>	PAS içeceklerinin antioksidan kapasite sonuçları	<b>47</b>
<b>Tablo 4.8.</b>	PAS içecek gruplarının kuru madde ve nem miktarları (%)	<b>48</b>
<b>Tablo 4.9.</b>	PAS içecek örneklerinin viskozite düzeyleri	<b>49</b>
<b>Tablo 4.10.</b>	Muhafaza süresince PAS içeceklerinin renk analiz sonuçları	<b>50</b>
<b>Tablo 4.11.</b>	PAS içeceklerinde gerçekleştirilen duyuusal analizlerin sonuçları	<b>51</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µm	Mikrometre
µs	Mikrosaniye
a*	Yeşillik-Kırmızılık
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AbD	Anabilim Dalı
ANOVA	One-Way Analysis of Variance
AOAC	The Association of Official Analytical Chemists/ Resmi Analitik Kimyacılar Birliği
aw	Water activity/ Su aktivitesi
b*	Mavilik-Sarılık
C-	Karbon
CaCO <sub>3</sub>	Kalsiyum karbonat
CGE	Siyanidin-3-glukozit eşdeğeri
-CH <sub>3</sub>	Metil
cm	Santimetre
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
Cy	Siyanidin
DF	seyreltme faktörü
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
Dp	Delfinidin
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EtOH	Etanol
FAO	Food and Agriculture Organization- Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Food and Drug Administration- Gıda ve İlaç İdaresi
FW	Taze ağırlık
g	gram
GRAS	Genel Olarak Güvenli
GRN	Genel Olarak Güvenli Bildirisi Numarası
GSE	Geliştirilmiş solvent ekstraksiyonu
h/h	hacim/hacim
H <sub>2</sub> O	Su
Hg	Cıva
Hz	Hertz
I	Inhibisyon
IBS	İrritabl bağırsak sendromu
ISO	International Organization for Standardization /Uluslararası Standartlar Teşkilatı
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives- Gıda Katkı Maddeleri Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi
k	Bozunma sabiti
K	Kelvin
kg	kilogram
kHz	kilohertz

<b>kob</b>	Koloni oluşturan birim
<b>kV</b>	kilovolt
<b>L</b>	Litre
<b>L*</b>	Siyahlık-Beyazlık
<b>LA</b>	Laktik Asit
<b>Ln</b>	Logaritma E tabanında
<b>Log<sub>10</sub></b>	Logaritma 10 tabanında
<b>M.S.</b>	Milattan sonra
<b>mg</b>	miligram
<b>mL</b>	mililitre
<b>MPa</b>	megapascal
<b>mPa.s</b>	milipaskal/saniye
<b>MW</b>	moleküler ağırlık
<b>My</b>	Malvidin
<b>N</b>	Normal
<b>NaOH</b>	Sodyum Hidroksit
<b>nm</b>	Nanometre
<b>no</b>	Numara
<b>NO</b>	Nitrit oksit
<b>NYSM</b>	Nutrient yeast extract salt agar- Besin mayası özü tuz agarı
<b>-OH</b>	Hidroksil
<b>Ort</b>	Ortalama
<b>PAS</b>	Peynir altı suyu
<b>PCA</b>	Plate Count Agar
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar
<b>Pg</b>	Pelargonidin
<b>pH</b>	Power of Hidrojen-Hidrojen Gücü
<b>PLE</b>	Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
<b>Pn</b>	Peonidin
<b>Psi</b>	Psi
<b>Pt</b>	Petunidin
<b>rpm</b>	Dakikada devir sayısı
<b>RSA</b>	Radikal Süpürücü Aktivite
<b>s</b>	Saniye
<b>SEM</b>	Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>SFE</b>	Süperkritik sıvı ekstraksiyonu
<b>SH</b>	standart hata
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences/ Sosyal Bilimler İstatistik Paketi
<b>SS</b>	Standart sapma
<b>t 1/2</b>	Yarılanma ömrü
<b>t</b>	Süre
<b>TMAB</b>	Toplam mezofilik aerobik bakteri
<b>TPAB</b>	Toplam psikrofil aerobik bakteri
<b>UAE</b>	Ultrason destekli ekstraksiyon
<b>vb.</b>	ve bunun gibi
<b>VRBA</b>	Violet Red Bile Agar
<b>WHO</b>	World Health Organization-Dünya Sağlık Örgütü

<b>WPI</b>	Whey protein izolatu
$\bar{x}$	Ortalama
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta



## ÖZET

### ENKAPSÜLE EDİLMİŞ KARA MÜRVER (*SAMBUCUS NİGRA*) ANTOSİYANİNLERİNİN, *BACİLLUS COAGULANS* VE İNÜLİN İLAVELİ PEYNİR ALTI SUYU İÇECEKLERİNDE KULLANIMI

Kara mürver (*Sambucus Nigra*) Avrupa'da geniş bir dağılım gösteren aynı zamanda Kuzey Afrika, İskandinavya ve Büyük Britanya'da da yaygın olarak bulunan küçük meyveler arasında geniş uygulama alanına sahip olan bir meyvedir. Yapısında yüksek oranda bulunan polifenoller ve antosiyaninler nedeniyle sağlık üzerine olumlu etkiler göstermektedir. Antosiyaninlerden en fazla siyanidin-3-glukozit ve siyanidin-3-sambubiosit bileşenlerini içermektedir. Antosiyaninlerin kararsızlığı, gıda endüstrisinde kullanılmalarında büyük bir zorluk oluşturmaktadır. Çalışmalar whey proteini ile antosiyanin arasındaki etkileşimin antosiyaninlerin rengini, stabilitesini ve antioksidan kapasitesini iyileştirebileceğini göstermektedir. Bu çalışmanın amacı kara mürver meyvesinden ekstrakte edilen antosiyaninlerin whey protein izolatları ile enkapsülasyonunun *Bacillus coagulans* (BC30) ve inülin ilaveli peynir altı suyu içeceklerinde kullanımını araştırmaktır. Bu amaç doğrultusunda kara mürver meyvesinden antosiyaninler elde edilmiş ve whey protein izolatı ile enkapsüle edilerek BC30 ve/veya inülin de içeren 6 farklı peynir altı suyu içeceği geliştirilmiştir. Kontrol grubu K, antosiyanin içeren grup A, BC30 içeren grup B, BC30 ve inülin içeren grup C, BC30 ve antosiyanin içeren grup D, BC30, antosiyanin ve inülin içeren grup ise E grubu olarak belirlenmiştir. Bu içecekler 4°C'de 28 gün muhafaza edilmiş ve içeceklerde antosiyanin miktarının belirlenmesi, antosiyanin kararsızlığının belirlenmesi, mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve duyusal analizler yapılmıştır. Antosiyanin ekstraksiyonu sonucu toplam antosiyanin miktarı 174,796 mg/L, enkapsülasyon verimliliği %50,46 olarak belirlenmiştir. Depolamanın 14. gününden itibaren B ve C gruplarının toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayıları sürekli artış göstermiştir. 28. analiz gününde ise en fazla TMAB sayısı B grubunda olmuştur. İçeceklerinin 1. analiz gününde toplam psikrofil aerob bakteri sayıları 4,52-4,63 log<sub>10</sub> kob/mL bulunmuştur. BC30 eklenen içecek gruplarının (B, C, D ve E) 1. analiz gününde en düşük BC30 sayısına sahip olan grubun 7,1 log<sub>10</sub> kob/mL ile D grubu, en fazla BC30 sayısına sahip grup ise 7,83 log<sub>10</sub> kob/mL ile B grubu olduğu saptanmıştır. Antosiyanin içeren grupların (A, D ve E) radikal süpürücü aktivite değerleri sırasıyla %51,35±19,4, %60,21±15,7 ve %60,63±15,2'dir. Yapılan duyusal değerlendirmede en yüksek puan 1. ve 14. gün E grubunda (8,2±1,3 ve 7,4±1,5), 21. gün A grubunda (8,2±0,4) saptanmıştır. Sonuç olarak geliştirilen peynir altı suyu içeceklerinin gıda endüstrisi için önemli literatürel bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Antosiyanin, *Bacillus coagulans* GBI-30 6086, İnülin, Kara mürver, Peynir altı suyu

## ABSTRACT

### BACILLUS COAGULANS AND INULIN ADDED WHEY BEVERAGES USING ENCAPSULATED ELDERBERRY (*SAMBUCUS NIGRA*) ANTHOCYANNINS

The fruit known as elderberry (*Sambucus nigra*) is not only extensively available in Europe but is also popular in North Africa, Scandinavia, and the United Kingdom. Due to the high concentrations of polyphenols and anthocyanins in its composition, it has beneficial effects on health. It has the highest concentration of the anthocyanins' cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-sambubioside compounds. An important obstacle to the use of anthocyanins in the food business is their volatility. According to studies, the interaction between whey protein and anthocyanins can enhance the anthocyanins' color, stability, and antioxidant power. The aim of this study is to examine the use of encapsulating elderberry fruit anthocyanins with whey protein isolates in *B. coagulans* (BC30) and whey beverages with additional inulin. In order to achieve this, anthocyanins were extracted from elderberry fruit and combined with whey protein isolate to create 6 unique whey beverages that contained BC30 and inulin. Group K was prepared as the control group. Group A contains anthocyanin, group B contains BC30, group C contains BC30 and inulin, group D contains BC30 and anthocyanin, group E contains BC30, anthocyanin and inulin. These beverages were stored at 4°C for 28 days. Analyses of the generated drinks' microbiological, physico-chemical, sensory, and anthocyanin stability as well as their anthocyanin content were performed. The total amount of anthocyanin was found to be 174,796 mg/L after anthocyanin extraction, and the encapsulation efficiency was 50.46%. The TMAB numbers for groups B and C have steadily reached since the 14<sup>th</sup> day of storage. The group B had the most TMAB on the 28<sup>th</sup> day of analysis. The TPAB counts of their beverages were discovered to be 4.52-4.63 log<sub>10</sub> cfu/mL on the first day of analysis. The group with the lowest BC30 count on the 1st day of analysis of the beverage groups (B, C, D, and E) with BC30 added is group D with 7.1 log<sub>10</sub> cfu/mL. The group with the highest number of BC30 is group B with 7.83 log<sub>10</sub> cfu/mL. The anthocyanin-containing groups (A, D, and E) had radical scavenging activity values of 51.35±19.4%, 60.21±15.7%, and 60.63±15.2%, respectively. The E group (8.2±1.3 and 7.4±1.5) on the first and 14<sup>th</sup> days, and the A group (8.2±0.4) on the 21<sup>st</sup> day received the highest scores in the sensory evaluation. As a result, it is anticipated that the created whey beverages would give the food sector crucial literature data.

**Key words:** Anthocyanin, *Bacillus coagulans* GBI-30 6086, Elderberry, Inulin, Whey

## 1.GİRİŞ

Günümüzde değişen yaşam tarzlarından dolayı sağlıklı beslenme ve sağlıklı gıda üretimi konusunda büyük bir ilgi görölmeye başlamıştır. Bu sebeple gıda sektöründe besin değeri yüksek ve insan sağlığını geliştirici etki gösteren gıda üretimi büyük önem arz etmektedir. Yeterli besin ögesi içeren ve insan vücuduna bir veya birden fazla işlevde bulunarak hastalık riskini azaltmayı amaçlayan gıdalara “fonksiyonel gıdalar” denilmektedir (Sezen ve Koçak, 2006).

Fonksiyonel gıdalar arasında fonksiyonel süt ürünleri de sağlık üzerine olumlu etkilerinin bilimsel olarak kanıtlanması ile günümüzde tüketicinin ve dolayısıyla da üretici sektörün ilgi odağı haline gelmiş ve süt sanayinde bu ürünler üzerine ar-ge çalışmaları ve üretim önemli ölçüde hız kazanmıştır. Probiyotik içeren gıdalara ilginin artması da süt ürünlerine probiyotik eklenerek geliştirilen birçok ürünü piyasaya kazandırmıştır. Peynir altı suyu (PAS) içecekleri fonksiyonel içecek geliştirme çalışmalarında en fazla yer bulan süt ürünlerinin başında gelmektedir. Süt teknolojisinin en önemli yan ürünlerinden biri olup, genel olarak sütün peynire işlenmesi sonucunda arta kalan sarımtırak-yeşil renkli sıvı olarak bilinmektedir (Dinçoğlu ve Ardıç, 2012). Spesifik fonksiyonel özellikleri ve besin değerinin zenginliği nedeniyle besin ve sağlık endüstrisinde çeşitli uygulamalara sahiptir. PAS, farklı düzeylerde laktoz, serum proteinleri, (albümin, globülin), vitaminler, mineraller (kalsiyum, fosfor, magnezyum, çinko vs.) ihtiva etmektedir. Peynir altı suyu proteinlerinin; kıvam arttırma, jel oluşumunu güçlendirme, emülsiyon oluşturma, serum ayrılmasını önleme gibi fonksiyonel özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Özcan ve Delikanlı, 2011). Bu sebeplerden ötürü, PAS birçok gıdanın besleyici özelliğine katkının yanısıra dayanıklılığının arttırılmasında, tekstürel ve duyuusal özelliklerinin zenginleştirilmesinde kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde, tıpta, tarım ve hayvancılıkta, sporcu beslenmesinde yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kara mürver (*Sambucus nigra* L.), son yıllarda en dikkat çekici bitkilerden biri olup, Hanımeligiller (Caprifoliaceae) familyasına ait bir meyvedir. 1-8 metre boyunda, güçlü bir kokuya sahip küçük bir ağaç veya çalı formunda bulunur. Mavi-mor renklere olan kara mürverin, çeşitli iklim koşullarına adaptasyonu farklı

coğrafyalarda gelişmesine olanak sağlamaktadır. İçerdiği fenolik bileşenler sayesinde yüksek antioksidan kapasite gösteren kara mürver, diğer meyve türlerine oranla son derece yüksek antosiyanin içeriğine sahiptir. Antosiyaninlerin elde edilmesi için kara mürver kullanımı yapılan birçok çalışmada karşımıza çıkmaktadır (Charlebois ve ark., 2010).

Antosiyaninler gerek insan sağlığına faydaları, gerek ürünlerin raf ömrüne olumlu etkileriyle fonksiyonel gıdalarda kullanıma uygun bir bileşiktir. Gıda sektöründe çoğunlukla kırmızı-mor renk pigmenti olarak kullanılmaktadır (Li ve ark., 2017). Böğürtlen, ahududu, üzüm, karadut, mürver gibi meyvelerden elde edilen antosiyaninler, pH değişikliklerine oldukça duyarlıdır. Kapsülleme teknikleriyle birlikte daha yüksek kararlılık ve biyoyararlanım gösterebilmektedirler (Mahdavi ve ark., 2014).

*Bacillus coagulans* GBI-30, 6086, ticari olarak temin edilebilen, laktik asit üreten ve spor oluşturabilen bir probiyotiktir (Jensen ve ark., 2010). Spor oluşturma yeteneği sayesinde fonksiyonel gıdalarda yüksek stabilite ve canlılık gösterebilmektedirler (Endres ve ark., 2009).

Bu çalışma, Burdur ilinde yetişen kara mürver (*Sambucus nigra* L.) meyvesinin antosiyanin düzeyi ve bazı kalite özelliklerini tespit etmek, elde edilen antosiyaninleri whey protein izolatı (WPI) ile enkapsüllereyerek antosiyanin bileşenlerinin etkinliğini ölçmek, kara mürverden elde edilmiş ve WPI ile enkapsüllemiş antosiyaninlerin PAS içeceği içerisindeki stabilitesini belirlemek, PAS'ın muhafazası esnasında enkapsüle antosiyanin ve inülinin *Bacillus coagulans* üzerine olan etkisini ortaya koymak, enkapsüle edilmiş kara mürver antosiyaninli, inülin ve/veya *Bacillus coagulans* ilaveli PAS içeceğinin raf ömrünü ve muhafaza sürecinde kalite parametrelerinde meydana gelecek değişimleri incelemek amaçlarıyla gerçekleştirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KARA MÜRVER

Mürver (*Sambucus spp.*); Kuzey Yarım Kürede yabani olarak yetişen veya üretim için yetiştirilen, küçük meyveler arasında en geniş uygulama alanına sahip olan meyvelerden biridir. *Adoxaceae* familyasına dahil olan *Sambucus*'un üyeleri küçük ağaçlar, çalılar veya otlardır (Fernald, 1950). Kesin taksonomik DNA çalışmaları yapılmadığından ve bu cinse ait türlerin sadece morfolojik özelliklere göre sınıflandırılması zor olduğundan, içerdiği türlerin kesin sayısı konusunda net bir fikir birliğine varılamamıştır. Ancak 9-40 arasında farklı türü olduğu düşünülmektedir (Charlebois ve ark., 2010).

Amerikan ve Avrupa mürverleri olmak üzere iki temel türü bulunan mürver, genellikle açık veya yarı açık alanlarda ve koşulların tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi için uygun olduğu habitat kenarlarında bulunur (Martin ve Mott, 1997). Mürver'in çok çeşitli iklim koşullarına adaptasyonu, geniş bir dağıtım aralığında gelişmesine olanak sağlamaktadır. Tam güneşte veya kısmi gölgede en iyi şekilde gelişim gösterir (Grime ve ark., 2014).

*Sambucus nigra* L. (Avrupa mürveri), Avrupa'da geniş bir dağılıma sahiptir. Özellikle Batı ve Orta Avrupa'da yetişen bu tür; Kuzey Afrika, İskandinavya ve Büyük Britanya'da da yaygındır (Atkinson ve Atkinson, 2002).

Mürver bitkisinin hemen hemen her kısmının (meyve, çiçek, yaprak, kök, kabuk) farklı kullanım alanları vardır (Vallès ve ark., 2004). *Sambucus*'un insanlar tarafından kullanımı ilgili bilgiler, Antik Roma'ya kadar uzanmaktadır. Dioscorides (M.S. 40-90), '*De materia medica*' adlı incelemesinde *S. ebulus* (cüce mürver) meyvesinin saçı renklendirmek için kullanılmasından bahsetmiştir (Osbaldeston ve Wood, 2000). Mürver çiçeklerinin ve kabuğunun tıbbi kullanımlarına ilişkin olarak 17. yüzyılda Agusti (1988) tarafından bir rapor yazılmıştır.

Mürver, bir gıda ve tıbbi bitki olarak değerlidir ve bu amaçla kullanımının Avrupa kültüründe önemli bir yeri vardır (Moerman, 1998). Özellikle *nigra* türü, birçok geleneğin de konusu olmuştur. Yerli Amerikalıların yerli *Sambucus* türlerini kullanma konusunda uzun bir geçmişi bulunurken Avrupalı göçmenlerin de mürveri benzer şekilde halk hekimliği için kullandıkları görülmüştür (Charlebois ve ark., 2010).

Yapraklar, çiçekler ve özellikle meyveler, Kuzey Amerikalı ve Avrupalı insanlar tarafından, çok çeşitli nesnelere için boya üretmek amacıyla kullanılmıştır (Moerman, 1998). Meyveler mordan soluk maviye dönük renk verirken, mürver kabuğu, siyah boya kaynağı olarak kullanılmıştır (Thompson, 1969). Mürver çiçekleri ise zanaatkarlar tarafından sarı bir boya üretimi (Allen ve ark., 2002) ve parfüm endüstrisinde (Durand ve ark., 1981) kullanılmıştır. Daha yakın zamanlarda, kabuktan ekstrakte edilen *S. nigra aglütinin*, çeşitli kanser türleri ile ilgili çok sayıda biyokimyasal ve histolojik çalışmada kullanılmıştır (Lekka ve ark., 2006).

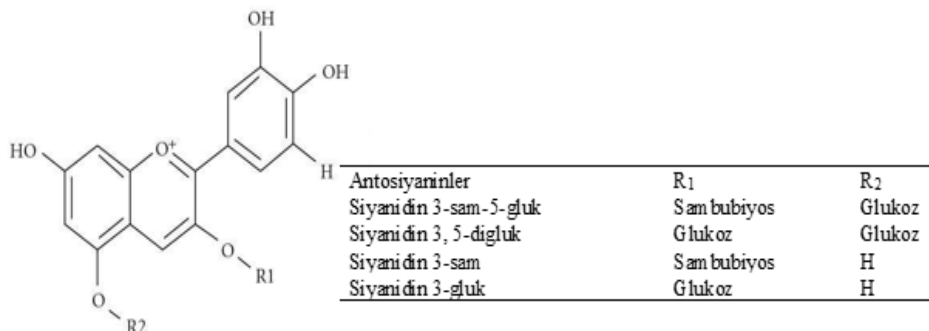
### **2.1.1. Kara Mürver Meyvesinin İçeriği**

Kara mürver suyunun elde edilmesinden sonra kalan ürün; fenolik bileşikler, antosiyaninler vb. gibi çeşitli biyoaktif maddeler ve farklı birçok besin ögesi içermektedir. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından yayımlanan istatistiksel verilere göre, Avrupa'da 2020 yılında mürver dahil 43.804 ton taze meyve üretilmiştir (FAO, 2022). Yüzlerce yıldır tıbbi bir bitki olarak kullanılmakta olan mürver (*Sambucus nigra* L.), kullanım alanlarının artması ve kolay üretimi sayesinde daha fazla ekim alanı bulmaya başlamıştır (Charlebois ve ark., 2010). Mürver bazlı ürünlere ve diyet takviyelerine olan yüksek talep, özellikle son birkaç yılda çoğunlukla COVID-19 pandemisi nedeniyle mürver üretiminin artmasına neden olmuştur (Uhl ve ark., 2022). Mürver pazarının yıllık büyüme oranının 2025 yılına kadar %6,52 olacağı tahmin edilmektedir, bu da mürver işlenmesinden sonra büyük miktarda atığın (posa) açığa çıkmasına ve bunun farklı kullanım olanaklarını beraberinde getirmesine sebebiyet verecektir (Technavio, 2022). Mürver, çoğunlukla hemiselüloz ve selülozdan oluşur, ancak aynı zamanda önemli bir polifenolik bileşik içermektedir. Son araştırmalar, kara

mürverde bulunan polifenollerin ve antosiyaninlerin çoğunun, meyve suyu sıkıldıktan sonra ortaya çıkan posada kaldığını bildirmiştir (Mutavski ve ark., 2022).

Antosiyaninlerin yanı sıra mürver, sağlık yararları birçok araştırmacı tarafından bildirilen çok sayıda başka biyoaktif bileşikler de içerir (Knudsen ve Kaack, 2015; Mlynarczyk ve ark., 2018). Meyveleri önemli miktarda C vitamini içeriğine (26-36 mg/100 g) sahiptir ve mineraller arasında potasyum, kalsiyum ve magnezyum miktarı oldukça fazladır (Vulic ve ark., 2008). Karbonhidrat içeriği diğer meyve türlerine göre düşüktür (6,5-18,4 g/100 g) ve temel olarak basit şekerlerden (glikoz ve fruktoz) oluşur (Veberic ve ark., 2009). Titre edilebilir asit içeriği düşük-orta düzeydedir ve sitrik asit ana organik asittir (0,6-1,7 mg/100 g), ancak önemli miktarda malik asit de vardır (Kaack ve ark., 2008).

Kara mürver meyvelerinde bulunan en belirgin bileşikler, yüksek antioksidan kapasiteye sahip polifenollerdir. Buna en iyi örnek olarak “antosiyanin” gösterilebilir. Başlıca mürver antosiyaninleri, mürver suyu ve polar ekstraktlarda bulunan siyanidin-3-glukozit ve siyanidin-3-sambubiosittir (Vlachojannis ve ark., 2015). Şekil 2.1.’de mürverde bulunan antosiyaninlerin kimyasal yapıları gösterilmektedir. Ayrıca mürver, zengin bir flavanol, fenolik asit ve prosiyanidin kaynağıdır. Mürver çiçekleri özellikle kaempferol, astragalin, kuersetin, kuersetin-3-O-glukozit, rutin, izokuersetin ve hiperosid gibi flavonoidler ve ayrıca fenolik asitler, gallik asit ve gentsik asit açısından zengindir (Domínguez ve ark., 2020).



**Şekil 2.1.** Mürver antosiyaninlerinin kimyasal yapısı (Bitsch ve ark., 2004)

Mürver, diğer meyve türlerine kıyasla (602,9-1265,3 mg CGE 100 g<sup>-1</sup> FW) son derece yüksek antosiyanin içeriğine sahiptir (Veberic ve ark., 2009). Meyvelerden elde edilen koyu kırmızı pigment konsantrasyonu, kabaklar, reçeller ve diğer bitki kökenli ürünler için renklendirici olarak kullanılır (Charlebois ve ark., 2010).

*Sambucus nigra* genotipleri ‘‘Korsor’’ ve ‘‘Haschberg’’ sırasıyla beş ve yedi ayrı antosiyanin içermektedir. Bu genotipler, siyanidin 3-sambubiosit-5-glukozit; siyanidin 3,5-diglukozit, siyanidin 3-sambubiyosit, siyanidin 3-glukozit ve pelargonidin 3-glukozit içermektedir (Charlebois ve ark., 2010). Kaack ve Austed (1998) tarafından incelenen ‘‘Korsor’’da ana pigment olarak siyanidin 3-glukozit bulunmuştur. Watanabe ve ark. (1998) tarafından incelenen *S. nigra*'nın siyanidin 3-glukozitten biraz daha fazla siyanidin 3-sambubiyozite sahip olduğu bulunmuştur. 'Haschberg' ise iki ek zirveye sahiptir (siyanidin 3-rutinosit ve delphinidin 3-rutinosit) (Charlebois ve ark., 2010).

Mürver özlerinin terapötik etkilerinin oldukça geniş olduğu kanıtlanmıştır (Ferreira ve ark., 2022). Antioksidan (Imenšek ve ark., 2021), anti-inflamatuar (Mota ve ark., 2020), adaptojenik (Neekhra ve ark., 2021), antialerjik (Alrumaihi ve ark., 2020), immünomodülatör ve antiviral (Schön ve ark., 2021), antibakteriyel, fotokoruyucu, antidepresan, antidiyabetik, antiaterosklerotik ve hipoglisemik ve hipolimidemik (Martiş ve ark., 2021) etkiler gösterdiği yapılan çalışmalarda açıkça gösterilmiştir. 100 g mürver meyvesi tüketimi, kadınlar ve erkekler için önerilen kalsiyum, potasyum, sodyum, fosfor, magnezyum, manganez, demir, çinko ve bakır gereksiniminin yaklaşık %0,2-30'unu karşılamaktadır (Diviš ve ark., 2015).

## 2.2. Antosiyaninler

Antosiyanin kelime anlamı bakımından Latince çiçek (*antho*) ve mavi (*cyanin*) sözcüklerinden türemiştir (Huh ve ark., 2009). Bitkilerin pembeden mora kadar değişen renklerini veren pigmentlerdir. Bitkilerde antioksidan ve UV ışımından koruma görevlerinin yanı sıra savunma, tozlaşma ve üreme fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır (Ko, 2002). Bu pigmentler; en çok böğürtlen, ahududu, nar, kırmızı lahana, siyah ve kırmızı kuş üzümü, ağaç çileği, kızılılık, erik gibi meyve ve sebzelerde

bulunmaktadır. Meyvelerin ısıtılması veya fermantasyonu ile antosiyaninler açığa çıkmaktadır (Ko, 2002). Çoğu meyve antosiyaninleri yalnızca olgunlaşma evrelerinde biriktirir. Bu nedenle antosiyaninler bitkilerde olgunlaşmanın belirteçleridir (Jimenez-Garcia ve ark., 2013).

Doğada bulunan birçok farklı antosiyanidin, genellikle üçüncü karbon atomundaki hidroksil grubuna; glikoz, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve arabinoz gibi şekerlerden biri veya ikisinin bağlanması ile oluşan 635 farklı antosiyanin tespit edilmiş olmakla birlikte bunlardan ancak bazıları yenilebilir ürünlerde bulunmaktadır (Li ve ark., 2017). Altı antosiyanidin, yani siyanidin (Cy), delphinidin (Dp), pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv) genel olarak meyvelerde bulunur. Bunlardan siyanidin en yaygın olanıdır ve incelenen meyve ve sebzelerin %82'sinden fazlasında bulunmaktadır. (Macheix ve ark., 2018). Delphinidin ve metillenmiş türevleri, petunidinler ve malvidinler koyu mavimsi ve mor renklerin kaynaklarıken, siyanidinler ve pelargonidinler parlak kırmızı renkli meyvelerdeki ana pigmentlerdir (Macheix ve ark., 2018). Bitkileri DNA'nın parçalanmasına ve hücre ölümüne neden olan serbest radikallerden koruyan antosiyaninlerin insanlarda kronik kalp hastalıkları riskini azaltma, görsel aktivite ve antiviral aktiviteyi geliştirme gibi etkileri görülmüştür (Cooper ve Yamaguchi, 2013). Bu etkilerinin yanı sıra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei* gibi bazı bakteriler için inhibitör özelliğe sahiptirler (Ova, 2001).

### **2.2.1. Antosiyaninlerin İnsan Sağlığına Etkileri**

Antosiyanin özütleriyle ilişkili yapılan çalışmalarda görme keskinliğinin artırılması (Lamer-Zarawska ve Oszmiański, 1994), antikanserojenik aktivite (Katsube ve ark., 2003), antioksidan kapasitenin artırılması (Kähkönen ve Heinonen, 2003; Lamer-Zarawska ve Oszmiański, 1994), ülser önleyici aktivite (Cristoni ve Magistretti, 1987), normal vasküler geçirgenliğin korunması (Lamer-Zarawska ve Oszmiański, 1994) gibi sağlık üzerine birçok olumlu etkileri bulunmuştur.

Jayaprakasam ve ark. (2005), tarafından yapılan bir çalışmada sunulan sonuçlarda, meyve ve sebzeden izole edilmiş ve saflaştırılmış antosiyaninlerin, tip 2

diyabetin tedavisinde faydalı olabileceği gösterilmiştir. Antosiyanin özütlerinin en önemli işlevi antioksidan aktiviteleridir. Ghiselli ve ark. (1998), İtalyan kırmızı şarabındaki antosiyanin fraksiyonlarının antioksidan aktivitesini araştırmış, antosiyaninlerin hem reaktif oksijen türlerini temizlemede hem de lipoprotein oksidasyonunu ve trombosit agregasyonunu önlemede önemli derecede etkili olduğunu göstermiştir. Bu araştırmacılar, antosiyaninlerin kırmızı şarapta kardiyovasküler hastalığa karşı koruma sağlayan anahtar bileşen olabileceğini öne sürmüştür. Tamura ve Yamagami (1994) tarafından antioksidatif aktivite ile ilgili yayımlanan başka bir raporda P-kumarik asit ile açillenen antosiyaninlerin  $\alpha$ -tokoferol veya (+)-kateşinden çok daha etkili antioksidanlar olduğu rapor edilmiştir.

Antioksidan aktivitenin yanı sıra, antosiyaninler ayrıca serbest radikal temizleme aktivitesine sahiptir. Antosiyanin radikali, insan vücudunda üretilen diğer radikallere göre daha stabildir, dolayısıyla bu radikalin süresi daha uzundur (Wolniak, 2002). Yapı-aktivite ilişkisi ile ilgili olarak, antosiyaninlerin antioksidan kapasitesi, C halkası etrafındaki serbest hidroksil gruplarının sayısı ile pozitif ilişkilidir. C-3 konumunda şeker bileşenlerinin varlığı da biyolojik aktivitelerini etkiler. Buna göre, bazı araştırmacılar C-3'teki daha düşük şeker birimlerinin daha yüksek antioksidan aktivitelere neden olacağına inanmaktadır (Bakowska-Barczak, 2005; Kähkönen ve Heinonen, 2003). Dolayısıyla, antosiyaninler ile bunların terapötik uygulamaları arasında açık bir yapı-aktivite ilişkisi vardır. Ayrıca, bu tür antosiyaninlerin apoptotik araçlar üzerindeki düzenleyici etkileri, inflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki olumlu etkileri, ümit verici antikanser ajanlar olduğunu düşündürmüştür (Xie ve ark., 2019).

Antosiyanin açısından zengin gıdalardan alınan diyet antosiyaninlerinin %70'inden fazlası kolona ulaşır. Bunlar bakteriyel translokasyonu azaltıp bağırsak mikroflorasını modüle ederek "prebiyotik benzeri" etki yaparlar (Singh ve ark., 2018). Antosiyaninler, kısa zincirli yağ asidi üreten bakterilerin büyümesini teşvik etmektedir. Bu da bir dizi sağlık yararı ile ilişkili olarak, kolonik bütirat, propiyonat ve asetat üretimini artırır. Kısa zincirli yağ asitlerinin bağırsak hastalıklarının, metabolik sendromun ve belirli kanser türlerinin önlenmesiyle ilgili olarak bağırsak sağlığında önemli roller oynadığı belirtilmiştir. Bağırsağı enterik patojen

kolonizasyonuna karşı korudukları, antiinflamatuvar etkilere sahip oldukları ve epitel bariyer işlevini iyileştirdikleri gösterilmiştir (den Besten ve ark., 2013). Bütirat kolon hücreleri için önemli bir enerji kaynağıdır. *Lycium ruthenicum* (Peng ve ark., 2020) ve *L. barbarum* antosiyaninleri ile (Tian ve ark., 2020) tedavi edilen farelerde *Coprobacter* veya *Odoribacter* gibi bütirat üreten bakterilerin çoğaldığı, kolon ve bağırsak bariyer fonksiyonlarında iyileşmeler görüldüğü bildirilmiştir.

Antosiyanin içeren yiyecekler açısından zengin diyetler, insan sağlığına olumlu etkilerle ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada farklı antosiyanin kaynaklarının tüketimi ile kardiyovasküler hastalıktan ölüm riskinde %14'lük düşüş gözlemlenmiştir (McCullough ve ark., 2012). Antosiyanin alımının kan şekeri seviyesini %57 düşürdüğü (DeFuria ve ark., 2009), hipoglisemik (Martineau ve ark., 2006), hipolipidemik (Oliveira ve ark., 2017) özellikler gösterdiği, nörodejeneratif hastalıklardan koruduğu (Duffy ve ark., 2008) ve osteoklast oluşumunu baskılayarak antiosteoporotik kemik emilimini etkilediği (Moriwaki ve ark., 2014) saptanmıştır. Bunlara ek olarak, gıda maddelerindeki antosiyaninler, bazı enzimlerin inhibisyonu yoluyla damarların gevşemesini düzenlemekte ve kardiyotoksositeye karşı koruma sağlamaktadır (Petroni ve ark., 2017). Ayrıca, antioksidan aktivitesi ile E vitamininden dört kat daha güçlü bir şekilde göz ve kalp sağlığını desteklemektedir (Al-Jaber ve ark., 2011).

FAO/WHO Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA), antosiyanin içeren özütlerin, mutajenite, üreme toksisitesi ve teratojenite dahil olmak üzere sınırlı toksikolojik çalışmalara dayanarak çok düşük bir toksisiteye sahip olduğu sonucuna varmıştır (Bakowska-Barczak, 2005).

Gıda endüstrisinde antosiyanin türevi pigmentlerin sentezinde antosiyanin kaynağı olarak kiraz, yaban mersini, kırmızı elma, erik, böğürtlen ve mürver özleri kullanılmaktadır (Mateus ve ark., 2004). Meyveler; hem kabuğunda hem de etinde antosiyanin bulunanlar, sadece kabuğunda antosiyanin bulunanlar ve bir uyarıya tepki olarak yüzeylerinde antosiyanin biriktirenler olarak kategorize edilebilir. Örneğin elma (*Malus domestica*) ve şarap üzümü (*Vitis vinifera* L.) gibi bazı meyvelerde üç çeşidi de bulunabilir. İlk iki sınıfta antosiyanin biyosentezinde gelişimsel düzenleme

önemli bir role sahipken, üçüncü sınıfta antosiyanin biyosentezi daha çok çevresel kontrol altındadır (Jaakola, 2013). Bununla birlikte, tüm meyve türlerinde çevresel faktörler, olgunlaşan meyvedeki antosiyaninlerin niceliksel ve niteliksel bileşimini etkiler. Genel olarak, türün/çeşitliliğin genetik arka planı, meyvelerde hangi antosiyaninlerin meydana geldiğini belirler, ancak çevresel faktörler, çeşitli antosiyaninlerin konsantrasyonunu farklı şekillerde etkileyebilir (Carbone ve ark., 2009). Antosiyaninler, stres koşulları altında bitkilerde foto-protektif bir rol oynar. (Merzlyak ve ark., 2008). Ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesinde de önemli etkisi bulunmuştur (Kytridis ve Manetas, 2006).

### **2.2.2. Antosiyaninlerin Elde Edilme Yöntemleri (Ekstraksiyon)**

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel kaynaklardan ekstraksiyonunda kullanılacak metotlar genellikle ekstraksiyon amacına ve antosiyaninlerin yapısına göre değişiklik göstermektedir. Antosiyaninler genellikle taze, dondurulmuş veya dondurularak kurutulmuş kaynaklardan ekstrakte edilmektedir. Ürünlerin ekstraksiyondan önce boyutları kesilerek veya doğranarak küçültülür. Antosiyaninler nötr veya alkali çözeltilerde stabil olmadığından ekstraksiyon işlemlerinde genelde asidik çözeltiler tercih edilmektedir. Ekstraksiyonda kullanılan en yaygın çözücüler; asitleştirilmiş etanol, metanol ve asetondur. En çok kullanılan asitler trifloroasetik asit (TFA), asetik asit veya hidroklorik asittir (HCl). Çözücü tipi, ekstraksiyon süreleri ve ekstraksiyon sayısı ekstrakte edilen antosiyanin miktarını farklı ölçülerde etkilemektedir (Braga ve ark., 2018a).

Antosiyanin ekstraksiyonu için geleneksel yöntem, bitki substratının bir çözücü ile maserasyonundan oluşur (Ćujić ve ark., 2016). Geleneksel yöntemlerin çoğu, uzun ekstraksiyon süreleri gerektirir ve bu, ekstrakte edilen antosiyaninlerin kısmen degradasyonuna yol açabilir. Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), ekstraksiyon süresini azalttığı, solvent kullanımını azalttığı, ekstraksiyon verimini artırdığı ve denatüre olmayan antosiyanin ürettiği bilinen bir tekniktir (Chemat ve ark., 2017). Basınçlı sıvı ekstraksiyonu (BSE) şu anda antosiyaninler gibi termolabil bileşikler için uygun olan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. BSE, çözücü kaynama noktasının altındaki sıcaklıklarda çalışır, yüksek ekstraksiyon

kinetiğini destekler ve çözücü tüketimini azaltır (Sousa Sabino ve ark., 2021). Tablo 2.1’de bazı bitkisel kaynaklardan antosiyaninlerin ekstrakte edilmesinde kullanılan yöntemler ve amaçlar yer almaktadır (Ongkowijoyo ve ark., 2018).

**Tablo 2.1.** Bazı besin kaynaklarına uygulanan antosiyanin ekstraksiyon yöntemleri

Besin Kaynağı	Ekstraksiyon koşulları	Amaç
Kırmızı üzüm kabuğu	%70 alkol	Antosiyaninlerin tanınması ve ayrılması
Kırmızı üzüm kabuğu	Ultrason destekli ekstraksiyon ile derin ötektik çözücü, optimum koşullar: kolin klorür ve oksalik asit, 65°C ekstraksiyon sıcaklığı, 50 dakika ekstraksiyon süresi, 35 kHz	Derin ötektik çözücü kullanarak çevre dostu antosiyanin ekstraksiyonunun geliştirilmesi
Yaban mersini şarabı posası	Ultrason destekli ekstraksiyon, optimum koşullar: %70 (h/h) etanol, %0,01 (h/h) HCl solvent, 400W ultrason, 61°C sıcaklık, 24 dk sonikasyon süresi	Ultrasonik destekli antosiyanin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu
Kiraz ve kızılçık	Asitlenmiş asetonitril	Delphinidin-3-O-glikozit, siyanidin-3-O-glikozit, pelargonidin-3-O-glikozit ve malvidin-3-O-glikozitin tanımlanması
Juçara kalıntıları	BSE:%99,5 etanol, asitlendirilmiş etanol ve su karışımı (%50 (h/h), damıtılmış su, asitlendirilmiş su SFE: CO <sub>2</sub> ile basınçlı, asitlendirilmiş etanol ve su karışımı (%50 h/h)	BSE ve SFE gibi yüksek basınçlı ekstraksiyon ile fenolik bileşik ve antosiyaninlerin ekstraksiyonu
Mor mısır	50°C'de ve 1500 psi'de su çıkarma	Farklı antosiyanin fraksiyonlarının raf ömrünün değerlendirilmesi
Mor patates	Vurgulu elektrik alanı ekipmanı (PEF) (ön arıtma): 1Hz, 5-35 puls 3µs, 1-5kV/cm %48, %96 etanol, asitlendirilmiş su banyosu (ekstraksiyon)	Vurgulu elektrik alanının farklı sıcaklıklarda antosiyanin ekstraksiyonu üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi

Antosiyaninler, normal olarak, asitler veya sülfidlerle hafifçe asitleştirilmiş polar çözücüler kullanılarak geleneksel çözücü ekstraksiyon metodolojileri ile ham bitki dokularından özütlenen polar moleküllerdir. Gıda ve ilaç uygulamalarında CO<sub>2</sub> en çok kullanılan süperkritik çözücüdür. Antosiyaninler için süper kritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu (SCE) ve geliştirilmiş solvent ekstraksiyonu (GSE) gibi yüksek basınçlı ekstraksiyon proseslerinin, geleneksel çözücü ekstraksiyona göre daha verimli olduğu kanıtlanmıştır (Díaz-Reinoso ve ark., 2006). SCE; bitki matrislerinden seçici olarak çeşitli aktif bileşenleri çıkarabilen, ayarlanabilir bir teknik olup özellikle antioksidanların ve antosiyaninlerin elde edilmesi için daha uygun bir yöntemdir. Çünkü bu bileşiklerin termal bozunmasını, ışık ve oksijenin olmaması nedeniyle oksidatif reaksiyonlarını önleyebilmektedir (Díaz-Reinoso ve ark., 2006).

### 2.2.3. Süperkritik CO<sub>2</sub> Ekstraksiyonu (SCE) ile Antosiyanin Eldesi

Ghafoor ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada SCE ile üzüm (*V. Labrusca*) kabuğundan antosiyaninlerin ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Belirtilen sonuçlara göre optimal SCE koşullarına; 45-46°C sıcaklık, 160-165 kg/cm<sup>2</sup> basınç ve %6-7 etanol ile ulaşıldığı ve bu değerler ile yapılan ekstraksiyon sonucunda maksimum ekstrakt verimi (%12,31) ve toplam antosiyanin miktarı (1,176 mg/mL) elde edildiği görülmüştür. Ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncının tüm tepkiler üzerinde önemli olduğu yine bu çalışma ile vurgulanmıştır. Maran ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise Java eriğinden (*Syzygium cumini* L.) antosiyanin ekstraksiyonu için optimize koşullar 50°C'de 162 bar basınç olarak belirtilmiştir. Bu koşullar altında, ekstraksiyon verimi 0,927 arzu edilirlilik değeri alırken 2,311 mg/g antosiyanin elde edilmiştir. Reátegui ve ark. (2014) böğürtlenden (*Rubus sp.*) ultrason destekli SCE ile antosiyanin ekstrakte etmişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucu 40-60°C ve 150-250 bar aralıklarında %5-10 etanol ile 2,20-17,54 mg/g antosiyanin elde etmişlerdir. Seabra ve ark. (2010) ise kara mürver posasından fraksiyonlu yüksek basınçlı ekstraksiyonlar yapmıştır. Çalışmada, süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ve ardından CO<sub>2</sub>/EtOH-H<sub>2</sub>O karışımları (1-100%, h/h) ile geliştirilmiş solvent ekstraksiyonu (GSE) kullanılmıştır. İkinci aşamada ise antosiyaninden zengin fraksiyonlar elde etmek için, 313 K ve yaklaşık 20 MPa değerlerinde çalışılmıştır. Elde edilen mürver

posası ekstraktlarındaki toplam antosiyanin içeriği 39-153 mg/g değerlerinde bulunmuştur.

Karbondioksitin polar bir bileşik olmayışı ve ekstraksiyon performansını sınırlayabilecek yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler çıkarmaması bu yöntemin ana dezavantajlarıdır. Bu sorunların üstesinden gelmek için uygun ortak çözücülerin eklenmesi en sık kullanılan strateji olsa da yeni kullanılan bir yaklaşım, bunun GSE gibi diğer metodolojilerle birleştirilmesidir. GSE, önemli ölçüde yüksek sıcaklıklarda (313-473 K) ve basınçlarda (3,3-20,3 MPa) H<sub>2</sub>O veya organik çözücülerin kullanımını içerir (Chamblee ve ark., 2004). Ekstraksiyon ortamının pH değerinde geçici bir düşüş olabilmekte ve bu antosiyanin stabilitesini ve hücre zarı geçirgenliğini artırarak daha yüksek difüzyonlara yol açmaktadır. Bu sayede antosiyanin ekstraksiyonu için oldukça önemli bir avantaj elde edilmektedir (Norton ve Sun, 2008). Antosiyaninlerin aktivasyonunu engelleyebilen istenmeyen enzimler (Kamat ve ark., 1995; Norton ve Sun, 2008) ve mikroorganizmalar (Foster ve ark., 2003) da inaktive edilmektedir. Öte yandan, çeşitli bitkisel matrislerde birlikte ekstrakte edilebilen veya istenen maddelerin ekstraksiyonunu olumsuz yönde etkileyebilecek, ekstraksiyon verimini ve seçiciliğini azaltabilecek istenmeyen bileşiklerin varlığı, doğal ekstraksiyon metodolojilerinde (geleneksel ve süper kritik) tipik bir durumdur. Bu durumun üstesinden gelmenin yolu, ekstraksiyon işleminin farklı aşamalarında farklı solvent karışımları kullanarak fraksiyonlanmış ekstraksiyon prosedürleri kullanmaktır (Pasquel ve ark., 2000; Reverchon ve ark., 1999).

#### **2.2.4. Antosiyaninlerin Biyoyararlanımı**

Antosiyaninlerin alımı büyük ölçüde ülkeye, mevsime ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak değişir. İlk tahmin Kuhnau (1976) tarafından 180-215 mg/gün olarak yapılmış, ancak daha ileri çalışmalar çok daha düşük tüketim seviyeleri olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, Amerikalı yetişkinlerin ortalama 12,5 mg/gün (Wu ve ark., 2006), İspanyol yetişkinlerin 18,9 mg/gün (Zamora-Ros ve ark., 2010) ve Finlandiya'da yaşayanların 82,5 mg/gün diyetle antosiyanin aldıkları rapor edilmiştir. Ancak bu tahminlerin metodolojik değerlendirmenin türünden, yiyecek ve

içeceklerdeki antosiyanin bileşimine ilişkin doğru olan verilerin azlığından oldukça etkilenmektedirler (Alvarez-Suarez ve ark., 2021).

İnsan sindirim sistemi boyunca pH çeşitlilik teşkil etmektedir. Antosiyaninler, pH değışikliklerine yanıt olarak yeniden düzenlenmeleriyle diğler flavonoidlerden ayırt edilir. Antosiyaninler midede (asidik pH'ta) daha stabil formda ve kırmızı flavilyum kasyonu halinde bulunurken; ince bağırsakta (pH>7), kırmızı flavilyum formlarına dönüştürülemezler, renksiz karbinol formunda bulunurlar ve sınırlı olarak emilime uğrarlar (Crozier ve ark., 2009).

Antosiyaninlerin uğradığı, biyoyararlanımlarını ve biyolojik etkilerini etkileyebilecek değışiklikler, yalnızca sindirim sürecinde değil, aynı zamanda gıdanın farklı işleme yöntemleri sırasında da meydana gelir. Termal ve termal olmayan işleme, depolama, oksidatif bozunma ve kapsülleme sistemleri gibi faktörlerin, antosiyaninlerin stabilitesini ve biyolojik etkilerini yakından etkilediğı gösterilmiştir. Son zamanlarda, bitkisel besinlerde meyve kalitesini ve antosiyanin içeriğini iyileştirmek için metabolik yolların gen ekspresyonunu düzenlemeyi amaçlayan yöntemler kullanılmaktadır (Braga ve ark., 2018b).

Antosiyaninlerin bir dizi hastalığı önleme ya da tedavi etmedeki etkinlikleri büyük ölçüde biyoyararlanımlarına bağlıdır (Faria ve ark., 2009). Birkaç araştırmaya göre, bu pigmentlerin sadece küçük bir kısmı insanlar tarafından emilmektedir. Bu nedenle antosiyaninlerin yararlı etkilerini değerlendirirken biyoyararlanımları göz ardı edilmemelidir. Antosiyaninlerin biyoyararlanımının flavonoidler arasında en düşük olanlardan biri olduğu ve bu değerin %1-2'den daha az olduğu tahmin edilmektedir (Lila ve ark., 2016). Bununla birlikte, bu tahminlerde, yalnızca orijinal antosiyanidin glikozitler ve bunların bazı faz II metabolitleri genellikle hesaba katılırken, tüm metabolit havuzunu dikkate alan daha yeni çalışmalar daha yüksek biyoyararlanım değerleri sunmaktadır. Antosiyaninin biyoyararlanımı, tüketilen miktardan da etkilenebilir. Gönüllü insanlarda yapılan bir çalışmada aynı miktarda yaban mersini suyunun 1/3 doz yerine tek seferde alındığında daha fazla antosiyanin emilimi ve tutulmasının meydana geldiğı gösterilmiştir (Kalt ve ark., 2017).

### 2.2.5. Antosiyaninlerin Stabilitesi ve Biyolojik Erişilebilirliği

Besin matrisinden salınım, antosiyaninlerin gastrointestinal emilim için uygun hale gelmesine yönelik ilk adımdır. Bitki hücrelerinde, bu pigmentler gıda işleme ve ağızdan çiğneme sırasında parçalanarak vakuollerde hapsedilir. Serbest bırakıldıktan sonra, karbonhidratlar, lifler, proteinler ve enzimler veya polifenoller gibi diğer gıda ve biyolojik bileşenlerle, biyolojik erişilebilirliklerini etkileyebilecek etkileşimlerle temas ederler (Fernandes ve ark., 2018). Ağızda, antosiyaninler oral epitel ve tükürük bileşenlerindeki hücrelere bağlanabilir ve ayrıca bazı enzimatik aktivitelere maruz kalırlar, bu da erken antosiyanin bozulmasına neden olabilir (Kamonpatana ve ark., 2014). Örneğin tükürük ve oral mikrobiyota,  $\beta$ -glikozidaz aktivitesi gösterir, bu nedenle ağız boşluğunda kısmi deglikozilasyon gerçekleşebilir (Requena ve ark., 2010).

Antosiyaninlerin çoğu mideye genelde doğal formlarında ulaşır. Midedeki yüksek asidik koşullar altında, antosiyaninler flavilyum katyonları haline gelmektedir. Bu formda nispeten kararlı olsalar da proteinler, pektinler gibi iyonik karbonhidratlar ve diğer polifenoller gibi yüklü moleküllerle etkileşime girerek emilim ve metabolizasyonu engelleyebilen komplekslere dönüşürler (Fernandes ve ark., 2018). Bununla beraber molekülün kimyasal stabilitesinin azalması nedeniyle tüketimden sonra antosiyanin biyoyararlanımı düşmektedir. Filme eklenen antosiyaninin veya antosiyanin ekstraktının biyoerişilebilirliği önemlidir ve *in vitro* olarak kanıtlanması gerekir. Antosiyanin ekstraksiyonunda genellikle moleküler yapılarını değiştirebilen ve insan vücudu tarafından erişilebilirliğini veya emilimini engelleyebilen kimyasal veya fiziksel süreçler kullanılır (Braga ve ark., 2018b). Örneğin, lahanaya tüketimden sonra, antosiyaninler gastrointestinal sistemden geçer ve bağırsaktan kan dolaşımına geçerek kan plazmasının antioksidan aktivitesini artırır (Wiczowski ve ark., 2016). Bu moleküller, hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler yoluyla insan serum albümini ile etkileşime girer, -OH kullanırlar ancak -CH<sub>3</sub>'ü kullanmazlar. Bunun için midede (asit pH) antosiyaninlerin hidrofobik etkileşimleri vardır (Kalt, 2019). Antosiyaninler asit ortamda kararlı (mide) nötr ve alkali ortamda (bağırsak) kararsız olduklarından bağırsakta kararsız kinoid bazlara dönüşür (Li ve ark., 2017). Antosiyanin molekülleri, gastrointestinal sistemi kaplayan münin ile birleşir ve emilimi daha yüksek bileşiklere

dönüşür. Bu nedenle antosiyaninler, işlevlerini yerine getirmek için insan vücudu tarafından kan dolaşımı (plazma yoluyla hidrofilik çözünenler) veya lenf (lipitler dâhil hidrofobik çözünenler) yoluyla taşınır (Kalt, 2019). Antosiyaninler için gösterilen aynı mekanizma, filmlere eklenen antosiyaninlerle de gerçekleşebilir. Antosiyanin içeren filmlerde, tarama için kullanılan yöntemlerle halihazırda *in vitro* antioksidan aktivite göstermiştir (Ge ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2019). Literatürde genellikle *in vitro* yöntemlerin biyolojik aktiviteleriyle ilgili olmadığı varsayılsa da bu filmler pratik ve uygun kabul edilen bir yoldur. Bu nedenle ön tarama prosedürleri için kullanılır (Amorati ve Valgimigli, 2018).

Antosiyaninlerin stabilizasyonu sorunu gıda endüstrisinde özellikle renklendirici olarak kullanımlarında ortaya çıkmaktadır. Antosiyaninlere bağlı olan şekerler bazı durumlarda kafeik, sinapik, gallik asit gibi aromatik asitler veya alifatik asitler tarafından açillenmektedir. Asilasyon, antosiyaninlerin stabilitesini önemli derecede artırmaktadır (Patras ve ark., 2010). Antosiyaninlerin stabilitesi sadece kimyasal yapılarından değil aynı zamanda pH, sıcaklık, ışığın varlığı, metal iyonları, oksijen enzimleri, askorbik asit, şekerler ve bunların bozunma ürünleri, proteinler, kükürt dioksit ve çevresel etkiler gibi diğer birçok faktörden de etkilenmektedir (Patras ve ark., 2010; Fernandez-Lopez ve ark., 2013). Bu nedenle gıda renklendiricileri ve sağlıklı gıdalar olarak antosiyanin açısından zengin ekstraktların kullanımı sınırlı olmaktadır (Frank ve ark., 2012).

Ek olarak, pH değişikliklerine duyarlılığı nedeniyle antosiyanin biyoyararlanımı düşüktür. Genel olarak, antosiyaninler 3,5 ve altındaki pH değerlerinde genellikle stabildir ve daha yüksek pH değerlerinde bozunurlar (De Pascual-Teresa ve Sanchez-Ballesta, 2007). Berry tipi meyvelerden izole edilen antosiyaninlerin yüksek kararsızlığı, renk stabiliteyi ve potansiyel sağlık yararları üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olduğundan, antosiyaninlerin stabilitesini ve/veya biyoyararlanımını geliştirmek için kapsülleme teknolojisi kullanılabilir (Mahdavi ve ark., 2014).

### 2.2.6. Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu

Günümüzde biyoaktif bileşiklerin ilaç veya zenginleştirilmiş gıda formunda kullanımını artmakta ve tüketici tarafından oldukça dikkat çekmektedir (Tavares ve Norena, 2019). Bu biyoaktif bileşikler esas olarak doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Özellikle meyveler, bitkiler ve bunların yan ürünleri bu bileşiklerin elde edilmesinde kullanılmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin bitkisel yağlar, uçucu yağlar, proteinler ve türetilmiş peptidler, vitaminler, polifenolik bileşikler ve antosiyaninler sağlığı geliştirici etkileri nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Yamashita ve ark., 2017). Ancak bu bileşikler çevresel koşullara karşı oldukça hassas oldukları için düşük biyolojik stabiliteye sahiptirler (Ye ve Augustin, 2019). Bunun yanı sıra bu bileşiklerden vücuda alınabilmesi için ince ve kalın bağırsaklara ulaşması gerekir. Bağırsaklara ulaşabilmek için değişken pH ortamlarından geçmek zorundadırlar (Hong ve ark., 2019).

Kapsülleme, bileşiklerin kimyasal/biyolojik stabiliteyi artırabilen, aktif maddeleri çevresel koşullardan, diğer gıda bileşenleri ile etkileşimlerinden korumak veya salınımlarını kontrol etmek için kullanılan bir tekniktir (Desai ve Jin Park, 2005; Ye ve Augustin, 2019). Mikrokapsülasyonda kullanılan polimerlere enkapsüle edici ajanlar denir. Ortaya çıkan mikropartiküller, boyutları mikron altı ile birkaç milimetre arasında değişebilen veziküller veya küçük partiküllerdir (Robert and Fredes, 2015). Toz (kapsülleme yapılmış ürün) üretimi, yalnızca paketlenme, depolama ve geçiş maliyetlerini düşürmesi değil, aynı zamanda ilgili biyoaktif bileşiklerin depolama stabilitesini de artırması nedeniyle gıda şirketlerinin dikkat çekmektedir (Rezvankhah ve ark., 2020).

Sprey kurutma (spray-drying) ve dondurarak kurutma (freeze-drying), işlevsel maddelerin kapsüllemesi için sıklıkla kullanılmaktadır (Yamashita ve ark., 2017). Sprey kurutma, kısa işlem süresinde uygulanan sürekli bir kurutma işlemidir. Gıda ve ilaç endüstrisinde çeşitli uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Rezvankhah ve ark., 2020). Diğer kapsülleme tekniklerine kıyasla daha yüksek kapsülleme verimliliği sağlar (Lee ve ark., 2018). Fakat bu teknikte solventi buharlaştırmak için yüksek sıcaklık kullanılır ve bu nedenle de bileşiklerde bozunma

meydana gelebilir (Rajabi ve ark., 2015). Bunun aksine, dondurarak kurutma, çoğunlukla bu tür hassas bileşiklerin kapsüllemesi için daha verimli bir tekniktir (Yamashita ve ark., 2017). Bu yöntemde kurutma işlemi ürünün dondurulması ve buz kristallerinin süblimasyon ile üründen uzaklaştırılarak ürünün neminin alınması temeline dayanır. Ürün böylece toz haline gelir (Karthik ve Anandharamakrishnan, 2013). Öte yandan uzun işlem süresi ve maliyetli bir yöntem olması dondurarak kurutmanın dezavantajlarıdır (Rezvankhah ve ark., 2020).

Antosiyaninlerin kapsüllemesi, öncelikle çevresel koşullardan (ışık, oksijen, sıcaklık ve su) koruma sağlamaya, oksidasyonu önlemeye ve aktif bileşiklerin raf ömrünü artırmaya olanak sağlamaktadır. Berry tipi meyvelerden elde edilen antosiyaninler, öncelikle yağda dağılmış faz, çift emülsiyon (w/o/w), ekstrüzyon, emülsifikasyon/ısı jelasyon, mikrojel sentezi, dondurarak kurutma, süperkritik CO<sub>2</sub>, sprey kurutma ve iyonik jelleştirme ile kapsüllenebilmektedir. Ancak dut tipi meyvelerden antosiyaninleri kapsüllemek için kullanılan en yaygın yöntem sprey kurutmadır. Diğer kapsülleme yöntemleriyle karşılaştırıldığında, sprey kurutma, tek aşamalı bir işlemde dut tipi mikro parçacık tozlarının elde edilmesini sağlar. Ayrıca, sprey kurutucular, gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak bulunan ekipmanlardır (Robert ve Fredes, 2015).

Mikrokapsülleme, antosiyaninin fiziksel-kimyasal özelliklerini dış müdahalelerden korumak için yaygın olarak uygulanan bir yöntemdir. Örneğin; Cheng ve ark. (2017), proantosiyanidin kapsüllemesini gerçekleştiren ve iyi bir kontrol salınımı gösteren biyopolimer aerojel küreleri oluşturmak için aljinat ve pektin kullanılmıştır. Bununla birlikte, inorganik CaCO<sub>3</sub> kapsülleri (Tan ve ark., 2018), jel (Wang ve ark., 2013), lipozomlar (Zhao ve Temelli, 2017) ve maltodekstrin (Mahdavi ve ark., 2016) de antosiyanini kapsüllemek için kullanılır. Ancak bunlar kapsamlı bir kalıcılığa sahip değildir (Yao ve ark., 2021)

Antosiyanin kapsüllemesi için çeşitli kapsülleme ajanları kullanılmaktadır. Arap zıkkı (Villacrez ve ark., 2014; Flores ve ark., 2014), mesquite zıkkı (Jiménez-Aguilar ve ark., 2011) ve akasya zıkkı (Nayak ve Rastogi, 2010) gibi doğal zıkkılar, peynir altı suyu (PAS) proteinleri (Flores ve ark., 2014; Fang ve

Bhandari, 2012) ve soya proteinleri (Robert ve ark., 2010) gibi proteinler, maltodekstrinler gibi polisakkaritler farklı dekstroz eşdeğerleri (Fang ve Bhandari, 2012; Villacrez ve ark., 2014), inülin (Bakowska-Barczak ve Kolodziejczyk, 2011), mısır nişastası (Villacrez ve ark., 2014) gibi polisakkaritler sprey kurutmada başarıyla kullanılmıştır. Kapsülleme ajanı seçimi, uygun kapsülleme verimliliği, saklama sırasında mikropartiküllerdeki aktif bileşiklerin stabilitesi ve gıdalarda ve gastrointestinal kanalda salım özellikleri için çok önemlidir (Robert ve Fredes, 2015).

### **2.3. Probiyotikler**

Son yıllarda yüksek besin değerine sahip, sağlığı geliştirici ve güvenli fonksiyonel gıdalara yönelik artan tüketici talebi ile probiyotik mikroorganizma içeren gıdalara olan ilgi de artmıştır (Kesenkaş ve ark., 2018). Probiyotikler “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçının sağlığı üzerinde olumlu etki yapan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır (Lebeer ve ark., 2018). Probiyotik içeren ürünlerin fayda sağlayabilmesi için en az  $10^7$ - $10^9$  kob/g probiyotik mikroorganizma içermesi gerekmektedir (Küçükçetin ve ark., 2016). Bağırsak mikrobiyotasında da doğal olarak bulunabilen probiyotikler; laktik asit ve asetik asit gibi bazı organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosin üretebilir (Konuray ve Erginkaya, 2018).

Probiyotikler, gıdalarda vejetatif form ve spor form olmak üzere iki farklı formda kullanılabilir. Vejetatif form; yüksek sıcaklıklara, neme, asitliğe, gıdanın raf ömrüne ve olumsuz çevre koşullarına spor forma göre daha duyarlıdır. Bazı probiyotiklerin hem vejetatif hem spor formları vardır (Aşan Özusağlam, 2010).

#### **2.3.1. *Bacillus Coagulans***

*B. coagulans* Gram pozitif, fakültatif anaerobik, patojenik olmayan, spor oluşturan, laktik asit üreten bir bakteridir. İlk olarak 1932'de Horowitz ve Wlassowa tarafından izole edilmiş, tanımlanmıştır ve *Lactobacillus sporogenes* olarak adlandırılmıştır. Ancak 1957'de biyokimyasal özelliklerine dayalı olarak yeniden

sınıflandırılmış ve mevcut doğru isimlendirme “*Bacillus coagulans*” olmuştur. (Endres ve ark., 2009).

Isıya dayanıklı bir bakteri olan *B. coagulans*'ın optimum büyüme sıcaklığı 35-50°C ve optimum büyüme pH'sı 5,5-6,5'tir (Karri ve ark., 2016). *B. coagulans*'ın bazı suşları, fakültatif anaerob, pH 6,2; 60-65°C'de üreyebilen termofil bakteriler olarak rapor edilmiştir (Benson ve ark., 2012). *B. coagulans* asit üretse de maltoz, rafinoz, mannitol ve sakaroz fermentasyonundan gaz üretmez. Özellikle laktik asit üretimi sayesinde eklendiği gıdanın koruyuculuğunu artırır. Laktik asit üretimine ek olarak, bazı suşlar ayrıca termostabil  $\alpha$ -amilaz da üretmektedir (De Clerk ve ark., 2004). Bu nedenle *B. coagulans* endüstriyel açıdan önemli bir bakteridir.

*B. coagulans*, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından Genel Olarak Güvenli (GRAS) olarak kabul edilmiştir (FDA, 2016). *B. coagulans*'ın güvenliğinin değerlendirildiği *in vivo* bir çalışmada,  $9,52 \times 10^{11}$  kob kadar yüksek bir dozun iyi tolere edildiği ve 70 kg'lık bir insan için güvenli olduğu gösterilmiştir (Endres ve ark., 2009). Ek olarak, *B. coagulans*'ın genomik analizinde, bu türdeki antibiyotik direnci ile ilgili genlerin diğer bakterilere kolayca aktarılamayacağı ve potansiyel güvenlik riski taşıyan başka hiçbir genin elde edilemediği gösterilmiştir (Salveti ve ark., 2016). Günümüzde piyasada *B. coagulans* içeren makarna, çikolata ve dondurma gibi birçok fonksiyonel gıda çeşidi bulunmaktadır. Bunun temel nedeni, diğer probiyotik bakteri suşları ile karşılaştırıldığında, *B. coagulans*'ın spor oluşturan bir bakteri olması, fonksiyonel gıdalarda stabilitesini ve canlılığını koruyabilmesidir (Majeed ve ark., 2016). Örneğin, *B. coagulans* sporları, pişirme ve kaynatma gibi yüksek sıcaklıkta gıda işlemeye karşı direnç sağlamaktadır. Bu, *B. coagulans*'ı fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi için ideal bir seçim haline getirmektedir (Konuray ve Erginkaya, 2018). *B. coagulans* ilavesinin ürünlerin duyuusal ve besinsel özellikleri üzerinde olumsuz bir etki göstermemesi de tercih edilebilirliğini artırmaktadır (Kobus-Cisowska ve ark., 2019).

*B. coagulans* GBI-30, 6086, ticari olarak temin edilebilen, laktik asit üreten, spor oluşturan bir probiyotiktir. Gastrik ve safra asitlerine karşı hayatta kalabilen *B. coagulans* GBI-30, 6086'nın gaz ve irritable bağırsak sendromu ile ilişkili

semptomlarda iyileşme üzerinde faydalı etkiler gösterdiği, bağışıklık fonksiyonunda artışa yol açtığı belirlenmiştir (Jensen ve ark., 2010).

*B. coagulans* GBI-30, 6086'nın vücuda girdikten sonra ince bağırsakta aktif hale geldiğinde, karbonhidratların ve proteinlerin sindirimine yardımcı olduğu gösterilmiştir. Tüketimi, çeşitli patojenler için uygun olmayan bir bağırsak ortamı yaratarak, tüketilen besin maddelerini daha iyi kullanabilen daha sağlıklı ve daha verimli bir bağırsak yolu oluşuma yardımcı olmaktadır (Honda ve ark., 2011). Tüketilen gıdaların daha iyi kullanılmasına ek olarak, *B. coagulans* GBI-30, 6086, yararlı bakteri popülasyonlarının yanı sıra bağırsakları kaplayan hücrelerin sağlığı için gerekli olan kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini teşvik ederek prebiyotiklerin faydalarını artırır (Nyangale ve ark., 2014). *B. coagulans* GBI-30, 6086'nın faydalı bakteri gruplarını artırarak disbiyozu iyileştirdiği saptanmıştır. Bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu, irritabl bağırsak sendromu (IBS) olan kişilerde karın ağrısı ve şişkinliğin azalmasına neden olur, diyarenin baskın olduğu IBS'si olan kişilerde günlük bağırsak hareketlerinin sayısını azaltır, ayrıca tokluk bağırsak gazı semptomları olan kişilerde gaz ve şişkinliği azaltır ve yaşam kalitesini artırır (Kalman ve ark., 2009). Suş ayrıca antiinflamatuvar ve immün modüle edici etkiler göstermiştir. *B. coagulans* GBI-30, 6086, güvenli bir kullanım geçmişine sahiptir ve ürün yüksek miktarlarda tüketildiğinde bile toksikoloji testlerine dayalı olarak kronik insan tüketimi için güvenlidir (Endres ve ark., 2011).

#### **2.4. Prebiyotikler**

İnsan vücudu tarafından sindirilemeyen, mide asidine direnebilen ve memeli enzimleri tarafından parçalanmayan maddelere prebiyotik denilmektedir (Gibson ve Roberfroid, 1995). Polisakkaritler (dirençli nişasta, pektin ve dekstrin) gibi sindirilmeyen karbonhidratlar ve fruktooligosakkaritler, galaktooligosakkaritler, ksilooligosakkaritler, izomaltooligosakkaritler, mannanooligosakkaritler, rafinoz oligosakkaritler, arabinoksilan-oligosakkaritler, laktuloz, inülin ve benzeri fruktanlar prebiyotik özelliklere sahip gıda bileşenleri olarak kabul edilmektedir (Mohanti ve ark., 2018; Colantonio ve ark., 2020). İnsan sağlığına olan faydaları nedeniyle, prebiyotikler gıda endüstrisi tarafından süt ürünleri, şekerlemeler, bebek mamaları,

tam buğday ekmeği, çikolata ve et ürünlerinde fonksiyonel bileşenler olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır (Ashwini ve ark., 2019).

#### 2.4.1. İnülin

Süt endüstrisinde, sağlık yararları ve gıda ürünlerine uygulanan teknolojik özellikleri nedeniyle ürünlerinin üretiminde prebiyotik bileşiklerin kullanımı tüketiciler için giderek daha fazla önem kazanmakta ve inülin üzerinde en çok çalışılan prebiyotiklerden biridir. İnülin sırasıyla  $\beta$  (2-1)  $\alpha$  (1-2) bağlarıyla ile bağlanan früktoz ve glukoz molekülleri bağlı fruktanlar olarak bilinen karbonhidrat grubudur. İnülin ticari olarak kudüs enginarı, yıldız çiçeği ve hindiba gibi birçok bitki türünden elde edilmektedir (Rubel ve ark., 2014). Soğan, sarımsak, pırasa, muz, olgunlaşmamış buğday, çavdar ve arpa, Kudüs enginarı ve hindiba kökü inülinin en zengin kaynaklarıdır (Scheid ve ark., 2013). Fizyolojik ve biyokimyasal aktiviteleri etkilediğinden, sağlığa pozitif etkileri ve birçok hastalık riskini azalttığı için fonksiyonel bir gıda maddesi olarak kabul edilmektedir (Karimi ve ark., 2015). İnülin, gıda endüstrisinde jel oluşturmak, viskoziteyi artırmak ve organoleptik özellikleri geliştirmek için düşük enerjili bir tatlandırıcı ve sindirilmeyen lif olarak, süt ürünlerinde daha çok şeker ve yağ ikamesi ve prebiyotik olarak kullanılmaktadır (Meyer ve ark., 2011).

İNülin, *Enterococcus* ve *Lactobacillus* gibi probiyotik organizmaların büyümesini ve aktivitesini iyileştirebilmektedir. Ayrıca inülin, mide-bağırsak yolunda zararlı bakteri üremesini engelleme, vücuttaki toksinlerin uzaklaştırılması ve vücudun doğal savunma mekanizmasını geliştirme gibi işlevleri bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, peynir altı suyu (PAS) proteini bazlı emülsiyonun, inülinin kapsüllemesi üzerinde ekstra koruma sağlayabileceği gözlemlenmiştir. Böylelikle PAS ile kapsüllemiş inülinin depolama sürecinde probiyotik bakterilerin stabilitesini geliştirebileceği bildirilmiştir (Ha ve ark., 2016). Bu probiyotik ve prebiyotik sinbiyotik formülasyonu, bağırsakta probiyotik bakterilerin çoğalmasını iyileştirebilme ve böylece bağırsak mikroflorasını değiştirebilme potansiyeli üzerine durulmuştur (Özer ve ark., 2005).

## 2.5. Fonksiyonel Gıdalar

Stresli yaşam tarzı ve değişen beslenme alışkanlıkları gibi faktörlerin kronik hastalıkların görülme sıklığının artmasına neden olduğu ve bunların önlenmesi ve tedavisinin oldukça maliyetli olduğu düşünülmektedir. Son zamanlardaki farklı çalışmalar, sağlığı iyileştirmek ve bazı hastalıkların riskini önlemek/azaltmak için dengeli beslenmenin önemini açıkça göstermektedir. Bu bulgular, insanların fonksiyonel bileşenler içeren gıdaları tüketmeye büyük ilgi göstermesine ve böylece sağlıklarını ve esenliklerini artırmalarına yol açmaktadır. Gıda endüstrisi araştırmaları, geleneksel gıda ürünlerine “fizyolojik fayda sağlayıcı etki” veren biyoaktif bileşenlerin belirlenmesine odaklanmıştır (Bigliardi ve Galati, 2013). Bu bileşikler, çeşitli gıdalara eklenebilir, doğal olarak zenginleştirilebilir veya türetilebilir olmaktadır. Böylece “fonksiyonel gıdalar” olarak adlandırılan yeni pazar gıda segmentinin temeli oluşmuştur (Kareb ve Aïder, 2019).

Hipokrat, sağlığın korunmasında gıdanın önemini “Yiyecekler ilacınız, ilacınız yiyecekler olsun.” sözleriyle vurgulamıştır. Kuzey Amerika'da, nüfusun %93'ünden fazlası, hastalıklara karşı bir korunma aracı olarak sağlıklı beslenme fikrini benimsemektedir. Bu sosyal eğilim ile birlikte, gıda endüstrisi sağlıklı beslenme ötesinde fonksiyonel gıdaları piyasaya sürmektedir. Bu fonksiyonel gıdaların çoğu; probiyotikler, prebiyotikler, biyoaktif peptitler ve antioksidan bileşikler gibi fonksiyonel bileşikler ve vitaminler ve spesifik mineraller gibi diğer besinleri içermektedir (Morelli ve ark., 2018).

Probiyotik içeren gıda ürünlerinin toplam fonksiyonel gıda pazarının %60-70'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir. Probiyotikler dünya çapında çoğunlukla yoğurt ve fermente süt ürünlerinde bulunur. Hedeflenen sağlık etkisine ulaşmak için önerilen etkili probiyotik dozunun günde yaklaşık  $10^9$  canlı hücre olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, probiyotiklerin etkinliği ve özellikle de oluşumlarından işlevselliklerine kadar hayatta kalmaları hakkında birçok önemli nokta vardır. Bu mikroorganizmalar, pH, toplam asitlik, sıcaklık, oksijen değişimleri ve düşük hayatta kalma seviyelerine yol açan besinlerin tükenmesi nedeniyle ürünün üretimi ve

depolanması sırasında tüketilene kadar birçok strese maruz kalmaktadır (Kareb ve Aider, 2019).

Ayrıca probiyotiklerin düşük proteolitik aktivitelerinden dolayı fermente süt ürünlerinde yavaş büyüme sergiledikleri gösterilmiştir (Tripathi ve Giri, 2014). Süt endüstrisinde en çok karşılaşılan zorluklardan biri, probiyotikler için zorlu bir ortam olduğu bilinen gastrointestinal sistemden geçişlerinin yanı sıra farklı koşullar altında daha iyi büyüme ve hayatta kalmalarını sağlayabilecek etkili bileşikler geliştirmektir. Bu bağlamda prebiyotikler, probiyotik bakterilerin büyümesini destekleyerek etkinliklerini artıran bileşikler olarak karşımıza çıkmaktadır (Romano ve ark., 2016).

Süt endüstrisinin en önemli yan ürünlerinden biri peynir altı suyudur. 2012 yılında yaklaşık 180 milyon ton PAS üretilmiştir. Ancak toplam üretimin yaklaşık %30-50'si kullanılmamaktadır (Sitanggang ve ark., 2016). Çevresel kirletici potansiyeline rağmen, PAS sayısız besleyici, fonksiyonel ve biyoaktif bileşiklerin değerli bir kaynağı olarak kabul edilir. PAS, çok yönlü faydalı bileşenler üretmek için kullanılabilen yüksek bir laktoz ve protein içeriği sunar (Kareb ve Aider, 2019).

## **2.6. Antosiyanin-Whey kompleksi**

Antosiyanin gibi fenolik bileşikler ile whey proteini gibi proteinler arasındaki etkileşimler birçok bilim insanı tarafından incelenmiştir. Fenolik bileşikler üzerindeki hidroksil gruplarının fazlalığı, proteinlerle etkileşim için olanak sağlamaktadır. (Buitimea-Cantúa ve ark., 2018). Komplekslerinin oluşumu hem protein hem de fenolik bileşiklerin yapısal, işlevsel ve besinsel değişikliklerine yol açmaktadır (Zhang ve ark., 2020).

Antosiyaninlerin kararsızlığı, gıda endüstrisinde uygulamaları için büyük bir zorluk oluşturmaktadır. Çalışmalar whey proteini ile antosiyanin arasındaki etkileşimin antosiyaninlerin rengini, stabilitesini ve antioksidan kapasitesini iyileştirebileceğini göstermektedir. Whey proteini antosiyaninleri sindirim sisteminde stabil tutmak ve biyoyararlanımı iyileştirmek için kapsülleme ile duvar malzemesi olarak kullanılabilir (Sharif ve ark., 2020). Antosiyanin yüklü whey protein

mikrojelleri, gastrointestinal sistemde hızla çözünebilir ve oluşan sıvı mikropartiküller, antosiyaninlerin salınmasını ve bozunmasını engeller (Liao ve ark., 2021).



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

Peynir altı suyu içeceklerinin üretiminde kullanılan peynir altı suyu tozu Mirel® Süt Ürünleri firmasından temin edilmiştir. Probiyotik olarak *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 (Ganeden BC30) kullanılmıştır. Prebiyotik amaçlı kullanılan inülin ticari olarak satın alınmıştır (Fibrelle, Belçika). Antosiyaninler kara mürver meyvesinin ekstraksiyonu sonucunda elde edilmiştir.

#### **3.2. Yöntem**

Çalışma temel olarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada üretimde kullandığımız kara mürver meyvelerinin bileşenleri ve yapısı incelenerek meyveler üründe kullanılabilir hale getirilmiştir. İkinci aşamada ise enkapsüle edilen kara mürver antosiyaninleri ile BC30 ve/veya inülin ilaveli peynir altı suyu üretimi gerçekleştirilerek muhafaza süresince yöntemde belirtilen analizlere tabii tutulmuştur.

##### **3.2.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler**

###### **3.2.1.1. Kara Mürver Meyvesinin Elde Edilmesi ve Kullanıma Uygun Hale Getirilmesi**

Olgunlaşmış taze kara mürver meyveleri Burdur ili Altınyayla ilçesindeki kara mürver üreticilerinden elde edilmiştir. Meyveler (Şekil 3.1.) kullanıma kadar -18°C±1'de buzdolabında dondurularak muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.1.** Toplanan kara mürver meyveleri

### **3.2.1.2. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı Tayini**

Kara mürver meyvesindeki kuru madde ve nem miktarı gravimetrik yöntem ile belirlenmiştir. (AOAC, 2000).

Kuru madde ve nem oranı aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Nem} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

$m_1$ : Kurutulmuş boş kurutma kabının ağırlığı (g)

$m_2$ : İçerisinde deney örneği bulunan kurutma kabının kurutma işlemi öncesi ağırlığı (g)

$m_3$ : içerisinde deney örneği, kurutma kabının kurutma işlemi sonrası ağırlığı (g)

$$\% \text{ Kuru madde} = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \times 100$$

$$\% \text{ Toplam kuru madde miktarı (g/100g)} = 100 - \% \text{ nem miktarı}$$

### 3.2.1.3. Kara Mürverden (*Sambucus Nigra*) Antosiyanin Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işlemi, süperkritik CO<sub>2</sub> sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon için özel filtrelerle ayrılmış üç kademeden oluşan, 400 bar basınca dayanıklı, 1500 mL kapasiteli bir ekstraktör kullanılmıştır (Şekil 3.2). Sıvı CO<sub>2</sub>'i yüksek basınçta pompalamak üzere ISCO pompa kullanılmıştır (Şekil 3.3.).

Ekstraksiyon, Seabra ve ark. (2010) tarafından belirtilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Kara mürver meyveleri ekstraktöre hacimce 1/3'üne kadar konulmuştur. Ekstraksiyon ünitesi dijital kontrollü bir ısı ceketini ile ısıtılmıştır. Gerekğinde co-solvent olarak su, etanol ve etanol-su karışımı (5:5, h/h) ekstraksiyon ünitesine verilmiştir. Ekstraktörün gaz giriş ve çıkış ünitelerinde özel filtreler bulunmaktadır. Sıcaklık 50°C'ye sabitlenerek ve CO<sub>2</sub> akışı sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonunda çıkış vanası açılarak ekstraktlar ve CO<sub>2</sub> toplama ünitesine alınmıştır. Burada CO<sub>2</sub> basıncı düşürülerek ekstraktlar elde edilmiştir.



Şekil 3.2. Üç kademeli süperkritik CO<sub>2</sub> sistemi



**Şekil 3.3.** Sıvı CO<sub>2</sub> akış pompası



**Şekil 3.4.** Ekstraksiyon sonucunda elde edilen antosiyanin özütü

#### 3.2.1.4. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarının Tespiti

Elde edilen ekstraktaki toplam antosiyaninler, yaygın olarak kullanılan protokole göre pH diferansiyel yöntemiyle belirlenmiştir (Giusti ve Wrolstad, 2001). Analiz edilen ekstraktın bir kısmı potasyum klorür tamponu ile (pH 1,0), diğeri ise sodyum asetat tamponu ile (pH 4,5) olmak üzere iki dilüsyon hazırlanmış ve 15 dk boyunca dengelenmiştir. Dilüsyonların absorbanı, 520 nm ve 700 nm’de okunmuştur.

Seyreltilmiş numunenin (A) absorbanı şu şekilde hesaplanmıştır:

$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4,5}$  (Giusti ve Wrolstad, 2001). Monomerik antosiyanin pigment konsantrasyonu (MAPC) daha sonra aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$MAPC \text{ (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{e \times l}$$

MW: moleküler ağırlık, DF: seyreltme faktörü, e: molar absorptivite, l: optik yol uzunluğudur.

#### 3.2.1.5. Antosiyaninlerin Enkapsülasyonu

Taşıyıcı malzeme olarak whey protein izolatı (WPI) kullanılmıştır. WPI, %20 (g/h) konsantrasyonunda %1 sitrik asit çözeltisi içinde süspansiyon edilmiş, daha sonra antosiyanin ekstraktı ve taşıyıcı süspansiyonu 1:9 (h/h) oranında karıştırılarak 20,000 rpm’de 20 dk homojenize edilmiştir (CLS Scientific/ CLPM-400). Hazırlanan numuneler 24 saat boyunca -40 °C’ye soğutulduktan sonra dondurularak kurutulmuş ve 96 saat süreyle depolanmıştır (-54 °C, 230-300 Hg). Kurutulan numuneler havan ve tokmak kullanılarak öğütülüp elenmiş ve kullanıma kadar oda sıcaklığında desikatörlerin içinde ağzı kapalı plastik torbalarda saklanmıştır (Souza ve ark., 2017).

### 3.2.1.6. Enkapsülasyon Verimliliğinin Saptanması

Kapsülleme verimliliği, kapsülleme öncesi ve sonrasındaki antosiyanin miktarına göre hesaplanmıştır (Kar ve ark., 2019).

$$\text{Kapsülleme verimliliği} = \frac{\text{Tozdaki total antosiyanin miktarı}}{\text{Ekstrakttaki total antosiyanin miktarı}} \times 100$$

### 3.2.1.7. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

İçeceklerin SEM analizi, kapsüllerin yüzey morfolojisini incelemek için kullanılmıştır (Rosenberg ve ark., 1985). Kapsüller, çift taraflı karbon bant kullanılarak alüminyum çubuklar üzerinde stabilize edilmiş ve püskürtme ile kaplanmıştır (JEOL JSM-7100-F). Ölçek, farklı büyütme güçlerini almak için 1, 10 ve 100 µm olmak üzere üç seviyede ayarlanmıştır. Taramalı elektron mikroskobundaki gözlem, -140°C'nin altındaki bir sıcaklıkta 10,0 kV'da gerçekleştirilmiştir. Her numunenin SEM görüntüleri sırasıyla 200, 500, 1000, 2000, 5000, 15000x büyütmelerde elde edilmiştir.

### 3.2.1.8. İnokulasyon Kültürünün (*Bacillus Coagulans*) Hazırlanması

*Bacillus coagulans* GBI-30, 6086, Abhari ve ark., (2016) tarafından tarif edilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. *B. coagulans*'ın Nutrient yeast extract salt agar (NYSM)'a çizme plak yöntemi kullanılarak ekimi yapılmış ve aerobik koşullarda 37°C 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Söz konusu agardan bir koloni seçilerek Nutrient Yeast Extract Salt Broth'a aktarılmış ve 37°C'de 48 saat (250 rpm çalkalanma) inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası süpernatant uzaklaştırılarak peletlerin üzerine %0,9'luk steril fizyolojik tuzlu su eklenerek ve 20 dk 3000 x g'de santrifüj edilmiştir (Elektro-Mag M 815 A). Son pelet steril normal tuzlu su içinde yeniden süspanse edilmiştir. Süspansyonda mL başına spor miktarının belirlenmesi için, seri dilüsyonlar yapılarak, 15 dk 80°C'ye tabi tutularak ve NYSM besi yerine dökme plak yöntemi ile ekimi gerçekleştirilmiştir. İşlemler sonrasında, steril fizyolojik

tuzlu su içinde hücre densitometresinde (Biosan DEN-1) 0,5 McFarland ( $10^8$ /mL'lik) konsantrasyon elde edilmiştir (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Hücre Densitometresi

### 3.2.1.9. Peynir Altı Suyu İçeceğinin Hazırlanması ve Bileşenlerin İlavesi

Peynir altı suyu tozu (Mirel®), steril su içinde %20 oranında çözündürüldükten sonra 65°C'de 15 dk pastörize edilerek deneysel PAS içeceği hazırlanmıştır. Tablo 3.1.'de belirtildiği gibi hazırlanan A, D ve E gruplarındaki PAS içeceğine WPI ile enkapsüle edilmiş kara mürver antosiyaninleri %0,1 oranında eklenmiştir. B, C, D ve E gruplarına  $10^8$  spor/mL konsantrasyonundaki *B. coagulans* ilave edilmiştir. *B. coagulans*'ın üremesini desteklemek amacıyla C ve E gruplarına %1 oranında inülin eklenmiştir.

**Tablo 3.1.** Deneysel peynir altı suyu içeceği grupları

<b>İçecek Grupları</b>	<b>Antosiyanin</b>	<b><i>Bacillus coagulans</i></b>	<b>İnülin</b>
Kontrol	-	-	-
A	+	-	-
B	-	+	-
C	-	+	+
D	+	+	-
E	+	+	+

### **3.2.2 retim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler**

#### **3.2.2.1. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceğindeki Antosiyanin Miktarının Tespiti**

Deneysel PAS ieceğindeki toplam antosiyaninler, yaygın olarak kullanılan protokole göre pH diferansiyel yöntemiyle belirlenmiştir (Giusti ve Wrolstad, 2001).

#### **3.2.2.2. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceğindeki Enkapsllenmiş Antosiyaninlerin Kararlılığının Belirlenmesi**

Depolama süresine bağlı olarak antosiyaninlerin kararlılığı Da Rosa ve ark.'ın (2019) belirttiği yönteme göre belirlenmiştir. Bozunma sabitesi (k) ve yarılanma ömrü ( $t_{1/2}$ ) sırasıyla 1 ve 2 no'lu denklemler kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\ln(C) = \ln(C_0) - k(t) \text{ (1 no'lu denklem)}$$

C: t zamanındaki antosiyanin konsantrasyonu (mg/mL);

C<sub>0</sub>: Antosiyaninlerin başlangıç konsantrasyonu (mg/mL);

t: Muhafaza süresi (gün).

$$t_{1/2} = \ln(2) / kt \text{ (2 no'lu denklem)}$$

$t_{1/2}$ : Yarılanma zamanı (gün);

k: Kinetik bozunma sabiti;

t: Süre (gün)

### **3.2.2.3. Mikrobiyolojik Analizler**

Toplam 6 farklı ürün grubu oluşturulmuştur (Tablo 3.1.). Ürünler muhafaza süresinde 4°C’de buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Laboratuvar analizleri deneysel olarak üretilen her grup ürüne, muhafaza sürecinin 1, 7, 14, 21, 28. günlerinde uygulanmıştır.

Deneysel PAS içeceklerinin her grubundan belirtilen analiz günlerinde örnekler alınarak aşağıdaki mikrobiyolojik analizlere tabii tutulmuştur. Ekimler çift seri halinde dökme plak yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve inkübasyon süresi sonunda 30-300 arası koloni içeren plaklar değerlendirilmiştir. Değerler kob/mL cinsinden ifade edilmiştir (Harrigan, 1998).

#### **3.2.2.3.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri (TMAB) Sayımı**

Hazırlanan dilusyonlardan dökme plak yöntemiyle Plate Count Agar (PCA) (Merck 1.05463) besi yerine ekimler yapılmış ve 30±1°C de 48 saat inkübe edilmiştir. (ISO 4833:2003(E), 2003).

#### **3.2.2.3.2. Toplam Psikrofil Aerob Bakteri (TPAB) Sayımı**

Hazırlanan dilusyonlara dökme plak yöntemi uygulanarak, PCA besi yerine ekim yapılmış, 10°C’de 5 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra sayılmıştır (ICMSF, 1982).

### **3.2.2.3.3. Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı**

Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck 1.01406) besi yerine 1 mL dilusyondan alınarak, çift kat dökme yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Petriler  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan tipik koloniler sayılmıştır (ISO, 2006).

### **3.2.2.3.4. Maya ve Küflerin Sayımı**

Dilüsyonlardan 1 mL alınarak Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck 1.10130) besi yerine dökme plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petriler  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$  de 5 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayılmıştır. (ISO 21527-2, 2008).

### **3.2.2.3.5. *Bacillus Coagulans* Sayımı**

Sayım Sekhavatizadeh ve ark. (2019) kullandığı metoda göre yapılmıştır. Glucose Yeast Extract Agar (Condalab, 1190.00) besi yeri kullanılmıştır. Hazırlanan seyreltiler önce  $80^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dk su banyosunda (Mermert model WB 14, Germany), bekletildikten sonra, hemen  $45^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulmuş ve sonrası dökme plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir (Soares ve ark., 2019).

## **3.2.2.4. Fiziko-Kimyasal Analizler**

### **3.2.2.4.1. Toplam Azot ve Protein Oranının Belirlenmesi**

Deneyel PAS ieeğindeki toplam protein ve azot miktarı Kjeldah yöntemine göre saptanmıştır (Lynch ve Barbano, 1999). Toplam azottan toplam protein hesaplanırken düzeltme faktörü 6,38 olarak alınmıştır.

### **3.2.2.4.2. Titrasyon Asitliğı**

Titrasyon asitliğı deneyel PAS ieeğinde alkali titrasyon metodu ile saptanmış ve sonuçlar % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2005). Her örnekten 10 mL alınmış ve üzerine 2-3 damla %1'lik fenolftalein ayracı eklenen

solüsyon sürekli karıştırılarak 0,1 N NaOH ile kalıcı pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı aşağıdaki açıkladığı şekilde titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Laktik Asit (LA)} = \frac{(\text{Harcanan NaOH (mL)} \times 0,009 \times 100)}{m}$$

m: İçecek miktarı (mL)

### 3.2.2.4.3. pH Tayini

Deneysel PAS ieeğinin pH'sı dijital pH metre (704 pH Meter, Metrohm) kullanılarak saptanmıştır (AOAC, 2005).

### 3.2.2.4.4. Antioksidan Kapasite Tayini

DPPH antioksidan kapasite miktarı, Brand-Williams ve ark. (1995) tarafından uygulanan yöntemin hafif modifikasyonları geliştirilerek tespit edilmiştir. Kör çözeltiler olarak metanol, standart olarak askorbik asit kullanılarak UV-VIS spektrofotometre (PGI marka T60U serisi) ile 517 nm'de absorbansı ölçülmüştür. DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak yüzde inhibisyon (%I) olarak belirlenmiştir.

$$I (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A0: Kontrol grubunun absorbansı

A1: Örneğin absorbansı

Yüzde olarak ifade edilen inhibisyon değerlerinin lineer interpolasyonu hesaplanarak IC<sub>50</sub> değeri bulunmuş, birim g/mL olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Tayini**

İçecek örneklerinde kuru madde miktarı tayini gravimetrik yöntemle belirlenmiştir (AOAC, 2019). Nem oranı ise “100-kuru madde oranı” olarak hesaplanmıştır.

#### **3.2.2.4.6. Viskozite Tayini**

Viskozite ölçümleri Gasse ve Frank (1991) tarafından tanımlanan metot modifiye edilerek uygulanmıştır. Viskozimetre (Brookfield marka, DV-II pro serisi) kullanılarak, oda sıcaklığında 10. saniyedeki viskozite sonuçları mPa.s olarak bildirilmiştir.

#### **3.2.2.4.7. Renk Tayini**

Deneysel PAS içecekleri gruplarının renk analizi için, renk ölçüm cihazı (Konica Minolta) kullanılarak değerler CIE L\* [açıklığı gösterir ve 0 (siyah için)-100 (beyaz için) arasında değişir], a\* [-a\* (yeşillik için) +a\* (kırmızılık için) arasında değişir] ve b\* [-b\* (mavilik için) +b\* (sarılık için)] renk sistemi ile ifade edilmiştir.

#### **3.2.2.5. Duyusal Analizler**

Duyusal değerlendirme ISO (2016) standardına göre yapılmıştır. Alanında eğitimli 10 kişilik (5 kadın + 5 erkek) panelist grubu oluşturulmuştur (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi AbD, Veteriner Fakültesi). Grupların değerlendirilmesi aydınlatılmış, koku barındırmayan ve optimal sıcaklıktaki (20°C) bir odada gerçekleştirilmiştir. Tüm panel oturumları için, her bir numune, her gruba karşılık gelen bir harfle kodlanmış plastik bardaklara konulmuştur. Tüm numuneler analizden önce 30 dk boyunca oda sıcaklığında (yaklaşık 20°C) bekletilmiştir. Değerlendirme, 9 puanlık bir hedonik skala kullanılarak yapılmıştır (9 = oldukça iyi; 1 = aşırı derecede kötü). Panelistler içecek örneklerini görünüm, tekstür, koku, aroma, tat, kıvam, renk, homojenite ve genel kabul edilebilirlik özelliklerini değerlendirmeye almışlardır.

### 3.2.2.6. İstatistiksel Analizler

Analizler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) programı versiyon 26 kullanılarak yapılmıştır. Araştırmada elde edilen verilere ait tanımlayıcı veriler ortalama ( $\bar{x}$ ) ve standart sapma (SS) olarak verilmiştir. İki verinin karşılaştırılmasında normal dağılan verilerde bağımsız örneklem t testi, normal dağılmayan verilerde Mann Whitney U testi kullanılmıştır. İki den fazla grubun karşılaştırıldığı normal dağılım gösteren verilerde One-Way Analysis of Variance (ANOVA), normal dağılım göstermeyen testlerde Kruskal Wallis-H testi kullanılmıştır. Gruplar arası farklılığı tespit etmek için Tukey's çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0,05$  kabul edilmiştir (SPSS, 2010). Üretim 3 tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiş olup analizler çift paralel olarak yürütülmüştür.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler

#### 4.1.1. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı

Çalışmada kullanılan kara mürver meyvelerinin nem ve kuru madde değerleri Tablo 4.1.'de verilmiştir. Taze kara mürver meyvelerinin kuru madde oranı %21,1±0,1, nem oranı %78,9±0,1 olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.1.** Kara mürver meyvelerinin nem ve kuru madde değerleri

Toplam kuru madde (%)	21,1±0,1
Toplam nem (%)	78,9±0,1

#### 4.1.2. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarı

Süperkritik CO<sub>2</sub> yöntemi ile ekstrakte edilerek toz haline getirilen kara mürver özütlerinin toplam antosiyanin miktarı 174,796 mg/L bulunmuştur.

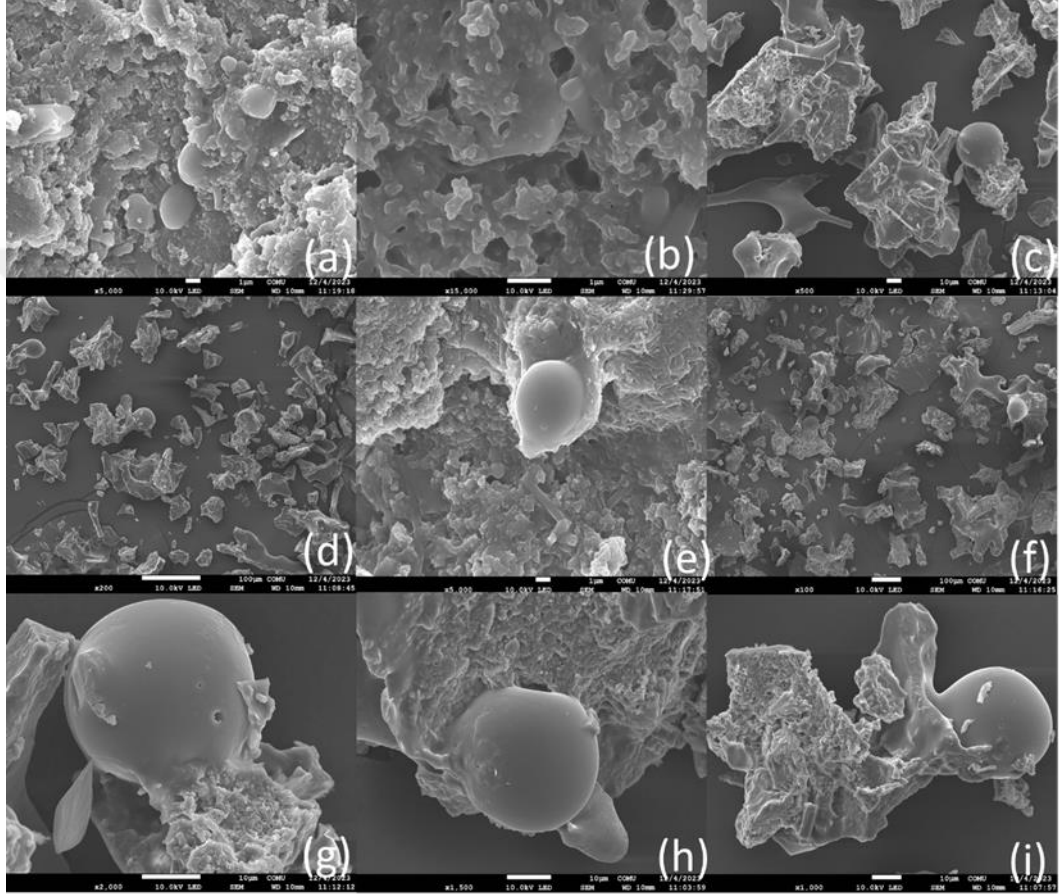
#### 4.1.3. Enkapsülasyon Verimliliği

Enkapsüle edilmiş tozdaki antosiyanin miktarı 88,21 mg/L bulunmuş olup, enkapsüle edilmeden önceki antosiyanin miktarı ile birlikte hesaplandığında enkapsülasyon verimliliğinin %50,46 olduğu saptanmıştır.

#### 4.1.4. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analiz Sonuçları

WPI ile enkapsüle edilmiş antosiyaninler SEM'de görüntülenmiş ve elde edilen görüntüler Şekil 4.1.'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde enkapsüle antosiyaninlerin bazı kısımlarının pürüzsüz, bazı kısımlarının pürüzlü (Şekil 4.1.g) bir yüzeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Tanecikler düzensiz şekillerden oluşmakta olup, küresel tanecikler olduğu gibi katmanlı yapıların da mevcut olduğu görülmektedir

(Şekil 4.1.a-b). Taneciklerin boyut dağılımları homojen değildir (d). Yapılan analiz sonucunda kapsüllerin boyutlarının ortalama  $147\pm65,5$   $\mu\text{m}$  olduğu saptanmıştır. Belirgin kopukluk veya çatlakların olduğu mikropartiküller gözlemlenmiştir. Ayrıca kapsüllerin bazı kısımlarında gözenekli yapıların bulunduğu, bundan dolayı kapsüllemenin maksimum seviyede olmasa da başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.1.** Dondurarak kurutma ile enkapsüle edilen antosiyaninlerin SEM görüntüleri  
a: 5.000 x; b: 15.000 x; c: 100 x; d: 200 x; e: 5.000 x; f: 100 x; g: 2.000 x; h: 1.500 x; i: 1.000 x

## 4.2. Üretim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler

### 4.2.1. Deneysel Peynir Altı Suyu İçeceklerindeki Antosiyanin Miktarı

Antosiyanin içeren gruplarda (A, D, E) yapılan ölçümler sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. PAS içeceklerinin 1. gün antosiyanin miktarlarına bakıldığında A, D ve E gruplarının sırasıyla  $6,5\pm0,7$ ;  $5,8\pm0,5$  ve  $4,0\pm0,7$  mg/L

antosiyenin içerdiği belirlenmiştir. 1 gün depolanan içecek grupları arasında en düşük antosiyenin içeriğine sahip E grubunun; A ve D grupları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p<0,05$ ) gösterdiği saptanmıştır. Depolamanın son günü olan 28. günde A, D ve E gruplarının antosiyenin içeriği sırasıyla  $5,6\pm0,0$ ;  $5,0\pm0,0$  ve  $2,7\pm0,1$  mg/L bulunmuştur. Veriler incelendiğinde 28. günde her bir grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık ( $p<0,05$ ) olduğu ve en fazla antosiyenin içeriğine sahip grubun A grubu; en az antosiyenin içeriğine sahip grubun ise E grubu olduğu görülmektedir. PAS içecek gruplarının günler arasındaki antosiyenin içeriklerinde ise sadece E grubunda istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.2.** Peynir altı suyu içeceklerinin antosiyenin miktarları (mg/L  $\bar{x}\pm SS$ )

Günler	A ( $\bar{x}\pm SS$ )	D ( $\bar{x}\pm SS$ )	E ( $\bar{x}\pm SS$ )	p
1	$6,5\pm0,7^B$	$5,8\pm0,5^B$	$4,0\pm0,7^{Ab}$	0,007
28	$5,6\pm0,0^C$	$5,0\pm0,0^B$	$2,7\pm0,1^{Aa}$	0,000
p	0,086	0,075	0,025	

\*Gruplar arası farklar büyük harflerle, günler arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

#### 4.2.2. Deneysel PAS İçeceğindeki Enkapsülenmiş Antosiyenin Kararlılıkları

PAS içeceklerinin depolandığı 1. ve 28. gün antosiyenin miktarları incelenmiş ve antosiyenin bozunma sabiti, yarılanma ömrü ve kayıp oranları Tablo 4.3'de gösterilmiştir. Bozunma sabiti (k) en yüksek E grubunda (0,0147) saptanmıştır. Bu nedenle yarılanma ömrünün E grubunda (50,2 gün) A ve D gruplarına kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). A, D ve E gruplarındaki antosiyenin kayıp oranları ise sırasıyla  $\%12,7\pm8,2$ ,  $\%12,1\pm8,8$  ve  $\%32,5\pm8,0$  olarak bulunmuştur. Gruplar arası kayıp oranları karşılaştırıldığında A ve D grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p>0,05$ ) ancak E grubundaki antosiyenin kaybının A ve D grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde ( $p<0,05$ ) fazla olduğu görülmektedir.

**Tablo 4.3.** Peynir altı suyu içecek gruplarındaki antosiyanin kayıpları

İçecek grupları	k	t ½ (gün)	Kayıp oranları (%)
A ( $\bar{x}\pm SS$ )	0,0051 <sup>a</sup>	216,6 <sup>a</sup>	12,7 $\pm$ 8,2 <sup>a</sup>
D ( $\bar{x}\pm SS$ )	0,0049 <sup>a</sup>	270,6 <sup>a</sup>	12,1 $\pm$ 8,8 <sup>a</sup>
E ( $\bar{x}\pm SS$ )	0,0147 <sup>b</sup>	50,2 <sup>b</sup>	32,5 $\pm$ 8,0 <sup>b</sup>
p	0,034	0,034	0,039

k: Bozunma sabiti

t ½: Yarılanma ömrü (gün)

\*Gruplar arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

### 4.2.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

#### 4.2.3.1. TMAB Miktarı

PAS içecek gruplarının 1, 7, 14, 21 ve 28. gün mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 4.4.'de gösterilmektedir. Depolamanın 1. gününde PAS içecek gruplarının TMAB sayısının 6,82-7,74 log<sub>10</sub> kob/mL aralığında bulunduğu, 7. gün analizlerinde A grubu en düşük TMAB miktarına (5,52 log<sub>10</sub> kob/mL) sahip olup, diğer gruplarla arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Depolamanın 14. gününden itibaren B ve C gruplarının TMAB sayıları sürekli olarak artış göstermiştir (p<0,05). 28. analiz gününde ise en fazla TMAB sayısının B grubu örneklerinde olduğu ortaya çıkmıştır (9,06 log<sub>10</sub> kob/mL) (p<0,05). Yalnızca K grubu muhafaza süresince TMAB miktarında sürekli artış göstermiştir.

#### 4.2.3.2. TPAB Miktarı

DeneySEL PAS içeceklerinin ilk analiz gününde TPAB sayıları 4,52-4,63 log<sub>10</sub> kob/mL bulunmuştur. 7. günde bu sayılar her grup için istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde artış göstermiştir (p<0,05). Yalnızca K ve C grubunda TPAB sayıları her analiz gününde sürekli artmış olup, en yüksek TPAB sayıları 21. günde 9,11-9,13 log<sub>10</sub> kob/mL ile A ve D gruplarında saptanmıştır. 28. analiz gününde gruplar arasında en yüksek TPAB miktarına sahip grubun K (8,91 log<sub>10</sub> kob/mL), bu sayının B grubu hariç diğer gruplarla arasında istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde farklı olduğu

görülmektedir ( $p<0,05$ ). Muhafazanın son gününde ise en düşük TPAB sayısı 8,41  $\log_{10}$  kob/mL ile E grubunda bulunmuş olup, K ve B grubu ile istatistiksel açıdan anlamlı fark gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

#### **4.2.3.3. Koliform Grubu Bakteri Miktarı**

28 günlük depolama süresince PAS gruplarının hiçbirinde koliform bakteri türü tespit edilememiştir.

#### **4.2.3.4. Maya ve Küflerin Miktarı**

İçecek gruplarında muhafazanın 1. ve 7. günlerinde sadece kontrol (K) grubunda sırasıyla  $3,90\pm 0,0$  ve  $6,76\pm 0,0$   $\log_{10}$  kob/mL düzeyinde maya-küf tespiti yapılmıştır. Muhafazanın 14, 21 ve 28. günlerinde ise bu değer  $7,13\pm 0,3$ ;  $8,30\pm 0,0$  ve  $8,07\pm 0,5$   $\log_{10}$  kob/mL olarak gerçekleşmiştir. Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre K grubunda analizlerin 1. ve 7. günlerinde anlamlı farklılık varken ( $p<0,05$ ) 21. ve 28. günlerindeki arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Muhafazanın 1. ve 7. günlerinde diğer gruplarda maya-küf tespit edilememiştir. 14. günde gruplar arasındaki maya-küf sonuçları incelendiğinde en fazla maya-küf miktarına sahip olan grubun K grubu olduğu ( $7,13\pm 0,3$   $\log_{10}$  kob/mL) ve yalnızca A grubu ile istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde fark gösterdiği belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 21. günde benzer şekilde K grubunun maya-küf sayısı ( $8,30\pm 0,0$   $\log_{10}$  kob/mL) diğer gruplara göre daha yüksek olmak ile beraber, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 28. analiz gününde en düşük maya-küf miktarına sahip olan grubun B grubu ( $7,17$   $\log_{10}$  kob/mL), en yüksek maya-küf miktarına sahip grubun K grubu ( $8,07$   $\log_{10}$  kob/mL) olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Günler arası maya-küf miktarı değişimlerine bakıldığında ise sadece E grubunda her analiz gününde istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde artış olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ).

#### **4.2.3.5. Bacillus Coagulans Miktarı**

BC30 eklenen PAS içecek grupları (B, C, D ve E) incelendiğinde, 1. analiz gününde en düşük BC30 sayısına sahip olan grubun  $7,09$   $\log_{10}$  kob/mL ile D grubu

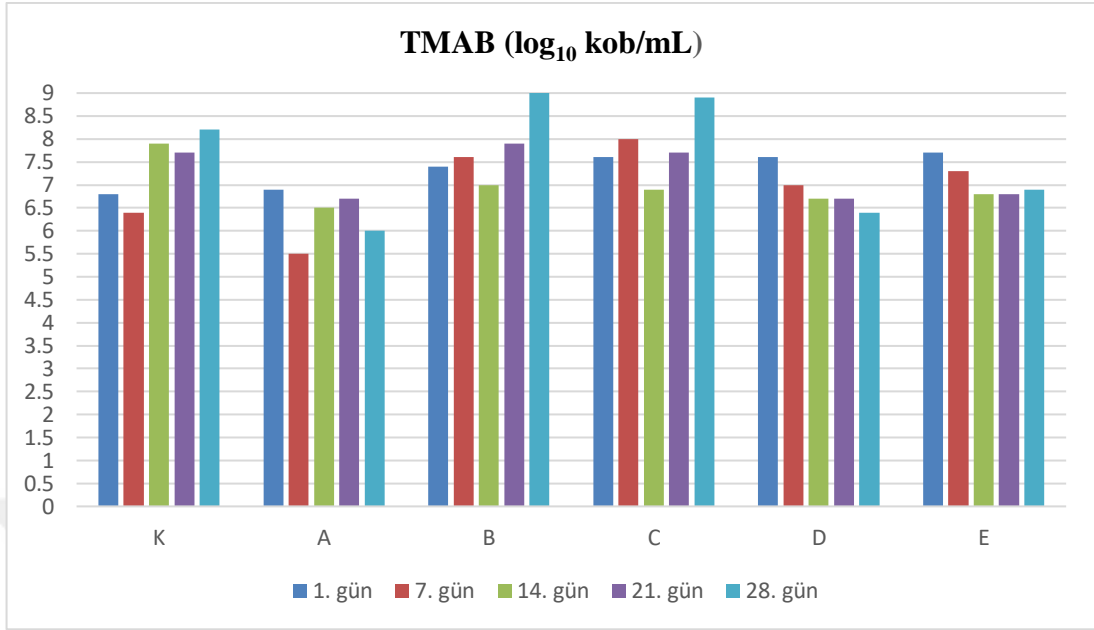
olduğu, en fazla BC30 sayısına sahip grubun ise 7,83 log<sub>10</sub> kob/mL ile B grubu olduğu görülmektedir. Ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). 7. analiz gününde C, D ve E gruplarında BC30 sayıları sırasıyla 8,20; 7,89, 9,14 log<sub>10</sub> kob/mL bulunmuş ve bu grupların BC30 sayılarındaki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0,05). 7. günde B grubunda BC30 sayısı istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da (p>0,05) azalma göstermiştir. 14. güne gelindiğinde C, D ve E gruplarında BC30 sayısı istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalmıştır (p<0,05). Son analiz gününde ise B, C, D gruplarında BC30 sayısı artarken, E grubunda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşüş olduğu (p<0,05) saptanmıştır. İçeceklerin depolama süresi boyunca en yüksek BC30 sayısına 7. günde 9,14 log<sub>10</sub> kob/mL ile E grubunda rastlanmıştır. Son analiz gününde bu sayı 5,97 log<sub>10</sub> kob/mL düzeyine düşerek E grubu gruplar arasında en düşük BC30 sayısına sahip olan grup olmuştur.

**Tablo 4.4.** Peynir altı suyu içecek gruplarının mikrobiyolojik analiz sonuçları (log<sub>10</sub> kob/mL)

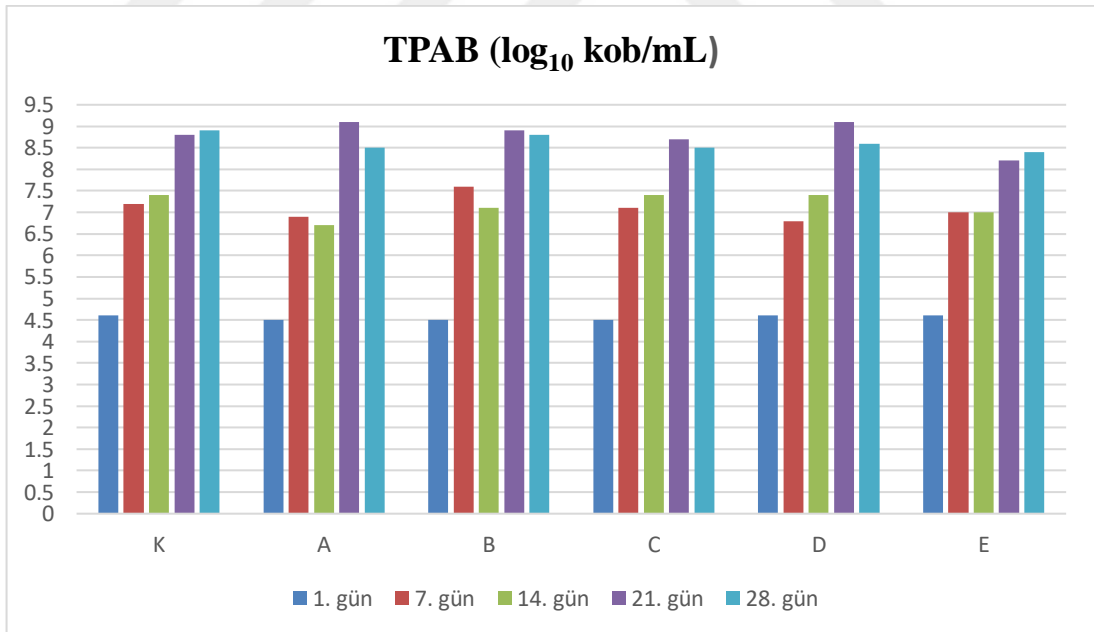
Parametre	Gün	K ( $\bar{x}\pm SS$ )	A ( $\bar{x}\pm SS$ )	B ( $\bar{x}\pm SS$ )	C ( $\bar{x}\pm SS$ )	D ( $\bar{x}\pm SS$ )	E ( $\bar{x}\pm SS$ )
<b>TMAB</b>	1	6,82±0,0 <sup>Aa</sup>	6,86±0,0 <sup>Ac</sup>	7,39±0,2 <sup>Bb</sup>	7,62±0,0 <sup>BCb</sup>	7,62±0,0 <sup>BCb</sup>	7,74±0,1 <sup>Cb</sup>
	7	6,43±0,0 <sup>Ba</sup>	5,52±0,4 <sup>Aa</sup>	7,57±0,0 <sup>CDbc</sup>	7,95±0,1 <sup>Dc</sup>	6,96±0,0 <sup>BC</sup>	7,30±0,6 <sup>CD</sup>
	14	7,91±0,0 <sup>Ebc</sup>	6,52±0,0 <sup>Ac</sup>	6,96±0,1 <sup>Da</sup>	6,90±0,1 <sup>CDa</sup>	6,70±0,0 <sup>Ba</sup>	6,77±0,0 <sup>BCa</sup>
	21	7,68±0,3 <sup>Bb</sup>	6,67±0,1 <sup>Ac</sup>	7,88±0,0 <sup>Bc</sup>	7,72±0,2 <sup>Bb</sup>	6,73±0,0 <sup>A</sup>	6,84±0,0 <sup>Aa</sup>
	28	8,20±0,2 <sup>Bc</sup>	6,03±0,3 <sup>Ab</sup>	9,06±0,0 <sup>Bd</sup>	8,87±0,1 <sup>Bd</sup>	6,38±0,7 <sup>Ab</sup>	6,89±0,0 <sup>Aa</sup>
<b>TPAB</b>	1	4,58±0,1 <sup>a</sup>	4,52±0,0 <sup>Aa</sup>	4,54±0,0 <sup>a</sup>	4,52±0,0 <sup>Aa</sup>	4,60±0,0 <sup>a</sup>	4,63±0,0 <sup>Ba</sup>
	7	7,16±0,0 <sup>b</sup>	6,89±0,0 <sup>Ac</sup>	7,59±0,4 <sup>Bb</sup>	7,08±0,1 <sup>b</sup>	6,84±0,1 <sup>Ab</sup>	6,99±0,0 <sup>Ab</sup>
	14	7,43±0,8 <sup>b</sup>	6,70±0,0 <sup>b</sup>	7,11±0,0 <sup>b</sup>	7,37±0,1 <sup>b</sup>	7,35±0,0 <sup>c</sup>	6,99±0,0 <sup>b</sup>
	21	8,81±0,0 <sup>Bc</sup>	9,11±0,1 <sup>Ce</sup>	8,89±0,0 <sup>BCc</sup>	8,69±0,2 <sup>Bc</sup>	9,13±0,1 <sup>Ce</sup>	8,16±0,0 <sup>Ac</sup>
	28	8,91±0,1 <sup>Cc</sup>	8,54±0,0 <sup>Ad</sup>	8,80±0,1 <sup>BCc</sup>	8,53±0,2 <sup>Ac</sup>	8,63±0,0 <sup>ABd</sup>	8,41±0,0 <sup>Ad</sup>
<b>Koliform Bakteri</b>	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE
	7	TE	TE	TE	TE	TE	TE
	14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
	21	TE	TE	TE	TE	TE	TE
	28	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Maya-Küf</b>	1	3,90±0,0 <sup>a</sup>	TE	TE	TE	TE	TE
	7	6,76±0,0 <sup>b</sup>	TE	TE	TE	TE	TE
	14	7,13±0,3 <sup>Bb</sup>	6,43±0,3 <sup>Aa</sup>	6,98±0,0 <sup>Ba</sup>	6,88±0,0 <sup>a</sup>	6,76±0,1 <sup>a</sup>	6,69±0,0 <sup>a</sup>
	21	8,30±0,0 <sup>Cc</sup>	8,11±0,1 <sup>Bb</sup>	7,83±0,0 <sup>Ac</sup>	7,69±0,1 <sup>Ab</sup>	8,11±0,0 <sup>Bc</sup>	7,70±0,0 <sup>Ab</sup>
	28	8,07±0,5 <sup>Bc</sup>	7,30±0,4 <sup>b</sup>	7,17±0,0 <sup>Ab</sup>	7,58±0,2 <sup>b</sup>	7,87±0,1 <sup>b</sup>	7,85±0,0 <sup>c</sup>
<b>B. coagulans</b>	1	-	-	7,83±1,2	7,43±0,0 <sup>b</sup>	7,09±0,1 <sup>c</sup>	7,51±0,1 <sup>c</sup>
	7	-	-	7,25±0,2 <sup>A</sup>	8,20±0,3 <sup>Bc</sup>	7,89±0,1 <sup>Bd</sup>	9,14±0,0 <sup>Cd</sup>
	14	-	-	6,84±0,3	6,77±0,0 <sup>a</sup>	6,76±0,1 <sup>a</sup>	6,71±0,1 <sup>b</sup>
	21	-	-	6,70±0,0 <sup>A</sup>	6,76±0,0 <sup>Ba</sup>	6,81±0,0 <sup>Cab</sup>	6,89±0,1 <sup>Db</sup>
	28	-	-	7,80±0,0 <sup>C</sup>	8,10±0,0 <sup>Dc</sup>	6,97±0,1 <sup>Bbc</sup>	5,97±0,0 <sup>Aa</sup>

\*Gruplar arası farklar büyük harfler ile günler arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

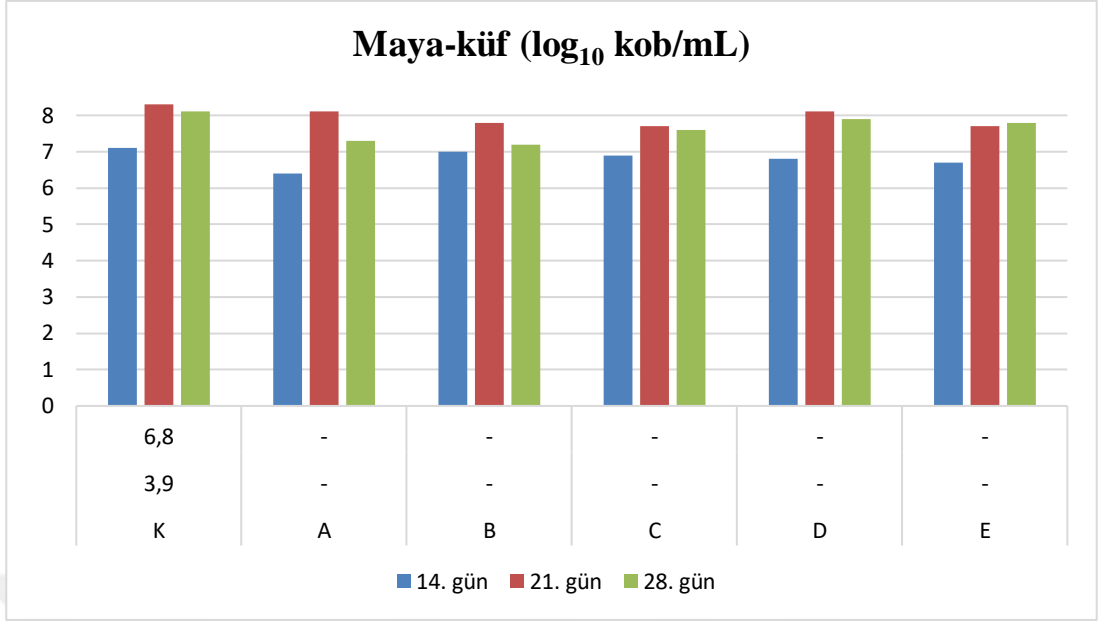
\*\*TE: Tespit edilemedi.



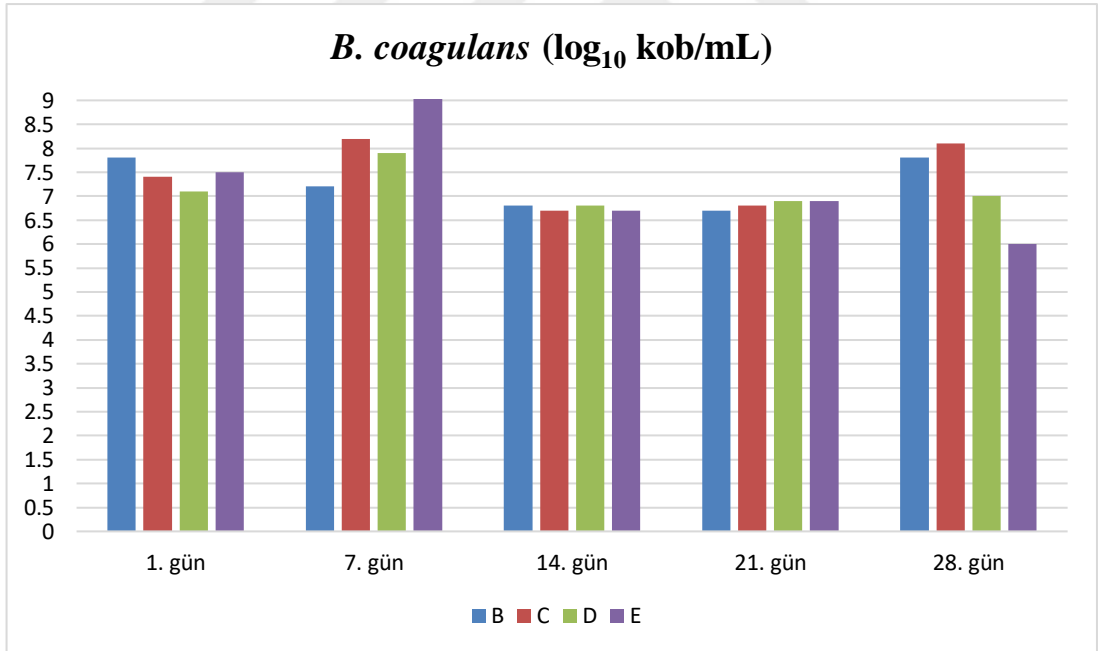
**Şekil 4.2.** Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen TMAB düzeyi



**Şekil 4.3.** Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen TPAB düzeyi



**Şekil 4.4.** Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen maya-küf düzeyi  
\*1. ve 7. günlerde maya-küf yalnızca K grubunda bulunduğuundan veriler şeklin altında gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.** Muhafaza süresince PAS örneklerinde tespit edilen *B. coagulans* düzeyi

#### 4.2.4. Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları

##### 4.2.4.1. Toplam Protein Oranları

İçecek gruplarında yapılan ölçümlerde elde edilen toplam protein oranları Tablo 4.5.'de gösterilmektedir. Üretildikten sonra 14 gün depolanmış olan PAS içeceklerinin toplam protein oranlarına bakıldığında protein yüzdelerinin 7,5-10,6 arasında değiştiği ve en yüksek protein içeriğine sahip grubun D (%10,6±0,1), en az protein içeriğine sahip grubun ise K (7,5±0,1) olduğu görülmektedir. Yapılan analizde tüm gruplar arasındaki protein yüzdeleri farklılığı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.5.** Peynir altı suyu içecek gruplarındaki protein oranları (%)

İçecek grupları	Protein (%)	P
K ( $\bar{x}\pm SS$ )	7,5±0,1 <sup>a</sup>	0,000
A ( $\bar{x}\pm SS$ )	9,2±0,1 <sup>d</sup>	
B ( $\bar{x}\pm SS$ )	9,8±0,1 <sup>e</sup>	
C ( $\bar{x}\pm SS$ )	7,9±0,1 <sup>b</sup>	
D ( $\bar{x}\pm SS$ )	10,6±0,1 <sup>f</sup>	
E ( $\bar{x}\pm SS$ )	8,6±0,1 <sup>c</sup>	

\*Gruplar arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

##### 4.2.4.2. Titrasyon Asitliği Değerleri

Her bir içecek grubu için depolanmanın 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde yapılan titrasyon asitliği ölçümleri sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.6.'da gösterilmektedir. Titrasyon asitliğinin 1. gün 0,014-0,018 aralığında değiştiği, K, C ve D gruplarının titrasyon asitliğinin diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde ( $p<0,05$ ) daha fazla olduğu görülmektedir. A ve B gruplarının titrasyon asitliği değerleri her analiz gününde artış göstermiştir. Son analiz gününde ise tüm içecek gruplarının titrasyon asitliği ilk analiz günlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde ( $p<0,05$ ) artmıştır. Muhafazanın son gününde en yüksek titrasyon asitliği değeri K grubunda (0,028) saptanmıştır olup, A ve C hariç diğer gruplar ile arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

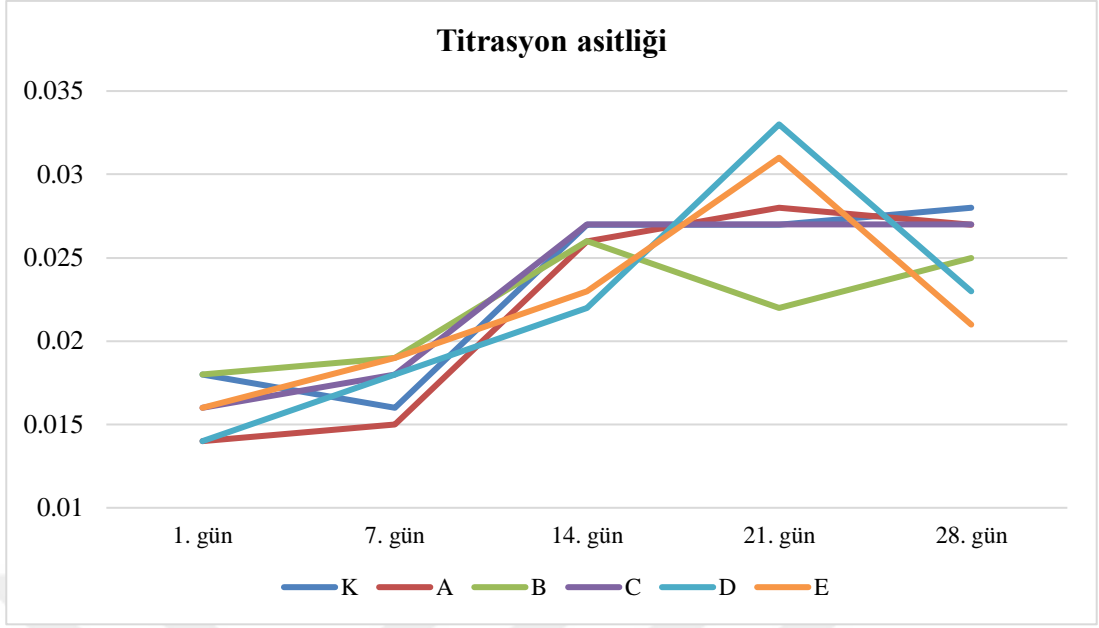
#### 4.2.4.3. pH Değerleri

İçecek gruplarının pH değerleri incelendiğinde muhafazanın ilk gününde pH'ın 7,09 ile C grubunda en yüksek, 6,98 ile B grubunda en düşük değerler aldığı görülmektedir. K, A ve E gruplarının pH'ı 1. günden 28. güne kadar azalmaya devam etmiştir. B ve C gruplarında pH 28. günde ilk güne göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde ( $p<0,05$ ) artmış, diğer gruplarda ise istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde ( $p<0,05$ ) azalmıştır. 28. günde en düşük pH değerinin 6,20 ile E grubunda, en yüksek pH değerinin 7,44 ile B grubunda bulunduğu, A ve E grubu hariç tüm grupların pH değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde birbirinden farklı olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

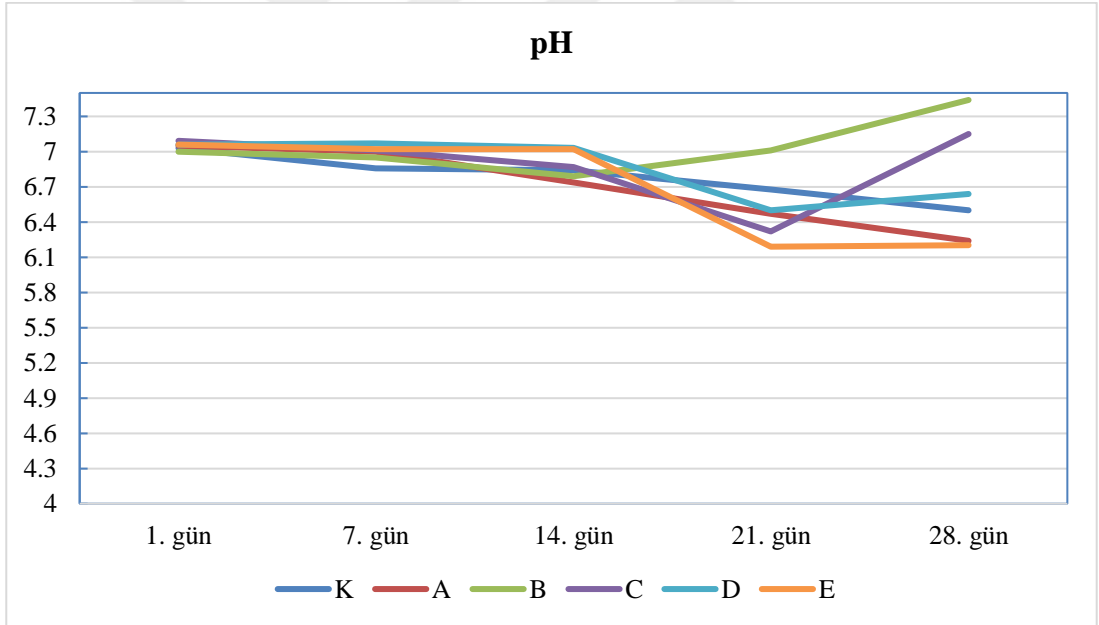
**Tablo 4.6.** İçecek gruplarının titrasyon asitliği (% laktik asit) ve pH sonuçları

Gün	K ( $\bar{x}\pm SS$ )	A ( $\bar{x}\pm SS$ )	B ( $\bar{x}\pm SS$ )	C ( $\bar{x}\pm SS$ )	D ( $\bar{x}\pm SS$ )	E ( $\bar{x}\pm SS$ )
<b>Titrasyon asitliği (%)</b>						
1	0,017 $\pm$ 0,0 <sup>Ca</sup>	0,014 $\pm$ 0,0 <sup>ABa</sup>	0,014 $\pm$ 0,0 <sup>ABa</sup>	0,018 $\pm$ 0,0 <sup>Ca</sup>	0,016 $\pm$ 0,0 <sup>BCa</sup>	0,014 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>
7	0,016 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>	0,015 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>	0,019 $\pm$ 0,0 <sup>BCb</sup>	0,018 $\pm$ 0,0 <sup>BCa</sup>	0,018 $\pm$ 0,0 <sup>Bb</sup>	0,019 $\pm$ 0,0 <sup>Ca</sup>
14	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>	0,026 $\pm$ 0,0 <sup>BCb</sup>	0,026 $\pm$ 0,0 <sup>BCd</sup>	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>	0,022 $\pm$ 0,0 <sup>Ac</sup>	0,023 $\pm$ 0,0 <sup>AB</sup>
21	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	0,022 $\pm$ 0,0 <sup>Ac</sup>	0,026 $\pm$ 0,0 <sup>ABb</sup>	0,032 $\pm$ 0,0 <sup>Be</sup>	0,028 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>
28	0,028 $\pm$ 0,0 <sup>Db</sup>	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>CDb</sup>	0,024 $\pm$ 0,0 <sup>BCd</sup>	0,027 $\pm$ 0,0 <sup>CDb</sup>	0,023 $\pm$ 0,0 <sup>ABd</sup>	0,021 $\pm$ 0,0 <sup>A</sup>
<b>pH değeri</b>						
1	7,03 $\pm$ 0,0 <sup>Bd</sup>	7,04 $\pm$ 0,0 <sup>BCE</sup>	6,98 $\pm$ 0,0 <sup>Abc</sup>	7,09 $\pm$ 0,0 <sup>Dd</sup>	7,06 $\pm$ 0,0 <sup>Cd</sup>	7,06 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>
7	6,86 $\pm$ 0,1 <sup>Ac</sup>	7,00 $\pm$ 0,0 <sup>BCd</sup>	6,95 $\pm$ 0,0 <sup>Bb</sup>	7,02 $\pm$ 0,0 <sup>CDc</sup>	7,07 $\pm$ 0,0 <sup>Dd</sup>	7,02 $\pm$ 0,0 <sup>CDb</sup>
14	6,84 $\pm$ 0,0 <sup>Cc</sup>	6,74 $\pm$ 0,0 <sup>Ac</sup>	6,79 $\pm$ 0,0 <sup>Ba</sup>	6,87 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>	7,03 $\pm$ 0,0 <sup>Dc</sup>	7,02 $\pm$ 0,0 <sup>Db</sup>
21	6,69 $\pm$ 0,0 <sup>Db</sup>	6,47 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>	7,01 $\pm$ 0,0 <sup>Ec</sup>	6,32 $\pm$ 0,0 <sup>Ba</sup>	6,50 $\pm$ 0,0 <sup>Ca</sup>	6,19 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>
28	6,50 $\pm$ 0,0 <sup>Ba</sup>	6,24 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>	7,44 $\pm$ 0,0 <sup>Ed</sup>	7,15 $\pm$ 0,0 <sup>De</sup>	6,64 $\pm$ 0,0 <sup>Cb</sup>	6,20 $\pm$ 0,0 <sup>Aa</sup>

\*Gruplar arası farklar büyük harfler ile günler arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Muhafaza süresince PAS içeceklerinin titrasyon asitliğindeki değişimler



Şekil 4.7. Muhafaza süresince PAS içeceklerinin pH değerlerindeki değişimler

#### 4.2.4.4. Antioksidan Kapasite Miktarı

PAS içeceklerinin depolandığı 1. günde DPPH-radikal süpürme aktiviteleri (RSA) ölçülmüş olup sonuçlar Tablo 4.7.'de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Ancak antosiyanin

içeren grupların (A, D ve E) diğer gruplara göre daha yüksek RSA değerleri verdiği görülmektedir. En düşük RSA değeri ise %44,19 ile K grubunda saptanmıştır.

**Tablo 4.7.** PAS içeceklerinin antioksidan kapasite sonuçları

İçecek Türü	% RSA ( $\bar{x}\pm SH^*$ )	p
K	44,19±23,9	0,986
A	51,35±19,4	
B	47,07±23,0	
C	47,72±22,8	
D	60,21±15,7	
E	60,63±15,2	

\*Standart hata değerleri verilmiştir.

#### 4.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Miktarı

PAS içecek gruplarında muhafazanın 1, 14 ve 28. günlerinde kuru madde ve nem tayini yapılmış olup sonuçlar Tablo 4.8.'de gösterilmiştir. 1. günde içecek gruplarında kuru madde oranları en az %15,39 ile K grubunda, en çok %16,41 ile C grubunda belirlenmiştir. 1. ve 14. gün analizlerinde A, C ve E gruplarının kuru madde oranları diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde fazla ( $p<0,05$ ) bulunmuştur. Tüm içecek gruplarının kuru madde oranı 28. günde artmış olup, en yüksek kuru madde oranının %18,96 ile E grubunda olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ).

İçeceklerin nem oranları incelendiğinde 1. günden 28. güne sadece E grubunun nem oranının istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde ( $p<0,05$ ) düştüğü, diğer gruplarda günler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p<0,05$ ) görülmektedir. Muhafazanın son gününde %84,45 ile D grubu en yüksek nem oranına sahip olan grup olmuştur.

**Tablo 4.8.** PAS içecek gruplarının kuru madde ve nem miktarları (%)

Gün	K ( $\bar{x}\pm SS$ )	A ( $\bar{x}\pm SS$ )	B ( $\bar{x}\pm SS$ )	C ( $\bar{x}\pm SS$ )	D ( $\bar{x}\pm SS$ )	E ( $\bar{x}\pm SS$ )
<b>Kuru madde</b>						
1	15,39±0,2 <sup>A</sup>	15,83±0,1 <sup>Ba</sup>	15,58±0,1 <sup>A</sup>	16,41±0,1 <sup>Ba</sup>	15,56±0,1 <sup>A</sup>	16,27±0,1 <sup>Ba</sup>
14	15,48±0,1 <sup>A</sup>	16,33±0,1 <sup>Bb</sup>	15,59±0,1 <sup>A</sup>	16,51±0,1 <sup>Ba</sup>	15,39±0,1 <sup>A</sup>	16,37±0,1 <sup>Ba</sup>
28	15,76±0,0 <sup>A</sup>	16,46±0,0 <sup>Bb</sup>	15,69±0,0 <sup>A</sup>	16,97±0,0 <sup>Bb</sup>	15,65±0,0 <sup>A</sup>	18,96±0,0 <sup>Cb</sup>
<b>Nem</b>						
1	84,61±0,2 <sup>A</sup>	84,16±0,1 <sup>B</sup>	84,42±0,1 <sup>A</sup>	83,59±0,1 <sup>B</sup>	84,44±0,1 <sup>A</sup>	83,73±0,1 <sup>Bb</sup>
14	84,52±0,1 <sup>A</sup>	83,67±0,1 <sup>B</sup>	84,42±0,1 <sup>A</sup>	83,49±0,1 <sup>B</sup>	84,61±0,1 <sup>A</sup>	83,63±0,1 <sup>Bb</sup>
28	84,34±0,1 <sup>C</sup>	83,64±0,1 <sup>B</sup>	84,41±0,1 <sup>C</sup>	83,13±0,1 <sup>B</sup>	84,45±0,1 <sup>C</sup>	81,14±0,1 <sup>Aa</sup>

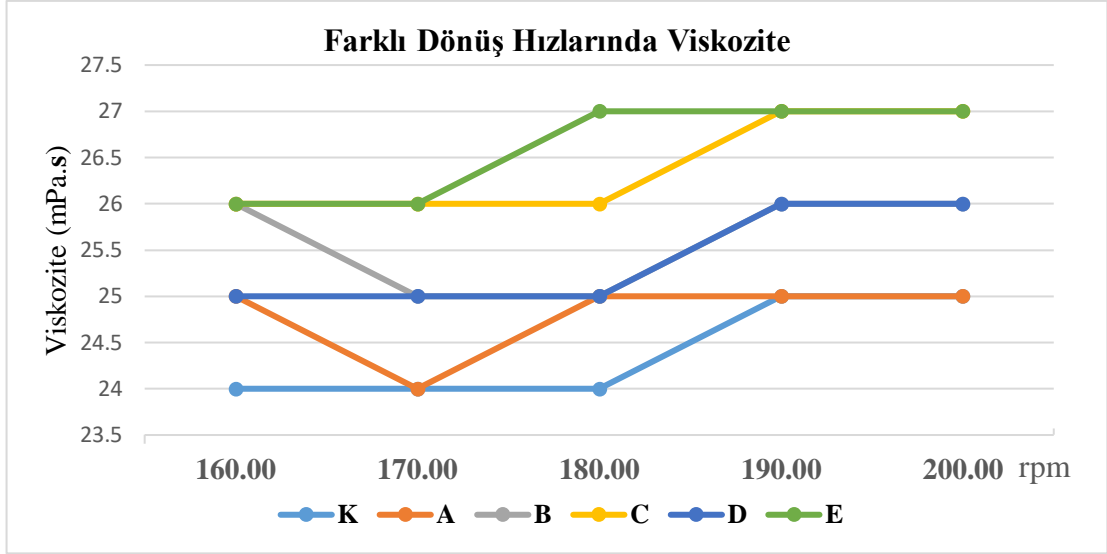
\*Gruplar arası farklar büyük harfler ile günler arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

#### 4.2.4.6. Viskozite Düzeyleri

İçecek örneklerinin viskozite sonuçları Tablo 4.9.'da ve farklı dönüş hızlarında (rpm) gösterdiği viskozite grafiği Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. İçecek gruplarının farklı hızlarda birbirine benzer viskozite gösterdiği görülmektedir. 160 ve 180 rpm'de en düşük viskozite K grubunda (24 mPa.s) saptanırken E grubu içecekler 180 ve 190 rpm'de en yüksek viskoziteye (27 mPa.s) sahip olmuştur.

**Tablo 4.8.** PAS içecek örneklerinin viskozite düzeyleri

Hız (rpm)	K	A	B	C	D	E
160	24	25	26	26	25	26
170	24	24	25	26	25	26
180	24	25	25	26	25	27
190	25	25	26	27	26	27
200	25	25	26	27	26	27



**Şekil 4.8.** PAS içeceklerin farklı dönüş hızlarında (rpm) gösterdiği viskozite değerleri

#### 4.2.4.7. Renk Değerleri

Depolamanın 14. gününde içeceklerin renk tayini yapılmış olup sonuçlar Tablo 4.10.'da verilmiştir. Grupların L\* değerleri 53,3-56,9 aralığında bulunmuş olup, bu değerler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık ( $p>0,05$ ) saptanmamıştır. a\* değerine bakıldığında antosiyanin içeren A, D ve E gruplarının diğer gruplara göre daha yüksek a\* değeri aldığı ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ( $p<0,05$ ); b\* değerine bakıldığında ise A grubunun diğer gruplara göre en yüksek değere sahip ve istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde farklı olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.10.** Muhafaza süresince PAS içeceklerinin renk analiz sonuçları

Renk Değeri	K ( $\bar{x}\pm SS$ )	A ( $\bar{x}\pm SS$ )	B ( $\bar{x}\pm SS$ )	C ( $\bar{x}\pm SS$ )	D ( $\bar{x}\pm SS$ )	E ( $\bar{x}\pm SS$ )
L*	56,9±2,8	53,6±2,8	53,3±0,8	55,9±3,6	53,9±2,1	53,3±2,8
a*	-3,98±0,3 <sup>A</sup>	-1,54±0,1 <sup>B</sup>	-3,52±0,4 <sup>A</sup>	-3,29±0,5 <sup>A</sup>	-1,71±0,3 <sup>B</sup>	-1,3±0,3 <sup>B</sup>
b*	4,58±0,2 <sup>A</sup>	4,80±0,1 <sup>B</sup>	3,51±0,3 <sup>A</sup>	4,53±0,0 <sup>A</sup>	4,49±0,4 <sup>A</sup>	4,51±0,5 <sup>A</sup>

\*Gruplar arası farklar büyük harfler ile gösterilmiştir.

#### 4.2.5. Duyusal Analiz Sonuçları

PAS içeceklerinin muhafazanın 1, 14 ve 21. günlerde duyusal yönden değerlendirmelere tabi tutulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde (Tablo 4.11) görünüm, tekstür, kıvam ve homojenite değerlendirmelerinde gruplar ve günler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ( $p>0,05$ ). “Koku” parametresi incelendiğinde yalnızca E grubunda 21. günde panelistlerin verdiği puan diğer günlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). PAS içeceklerinin “aroma” puanlarına bakıldığında, 1. ve 14. günlerde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemektedir ( $p>0,05$ ). 21. günde ise A grubu 8,0 ile en yüksek puana, E grubu ise 4,2 ile en düşük puana sahip gruplar olarak karşımıza çıkmıştır. A grubu ile K, D ve E grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde fark olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ).

Panelistlerin içecekleri “tat” yönünden değerlendirdiği 1. ve 14. günlerde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p>0,05$ ), 28. günde ise “aroma” parametresine benzer şekilde en yüksek puanları A grubunun, en düşük puanları ise E grubunun aldığı görülmektedir. “Renk” parametresi incelendiğinde antosiyanin içeren grupların (A, D ve E) 1 ve 14. günde diğer gruplara göre daha düşük puanlar aldığı fakat bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ). “Genel kabul edilebilirlik” yönünden yapılan değerlendirmelerde 1. ve 14. günlerde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 21. gün analizlerinde ise A grubu en yüksek (8,2) puana, E grubu en düşük (4,4) puana sahip olan gruplar olmuştur. B grubu 7,4 puan ile A grubu ile istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ). K ve A gruplarında günler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4.11.** PAS içeceklerinde gerçekleştirilen duyu analizlerinin sonuçları (n=10)

Özellik	1. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )	14. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )	21. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )
<b>Görünüm</b>			
K	7,8±0,8	7,4±1,1	8,2±1,1
A	7,2±1,1	6,6±0,5	7,0±1,0
B	7,6±0,9	7,8±1,1	8,2±1,1
C	7,8±0,8	7,6±1,1	8,2±1,1
D	7,4±0,9	6,8±1,3	8,2±1,1
E	7,0±1,0	7,0±1,4	7,0±1,0
<b>Tekstür</b>			
K	8,2±0,8	7,6±0,9	8,6±0,5
A	8,2±0,8	7,4±1,1	8,6±0,5
B	8,0±1,0	7,8±0,8	8,6±0,5
C	8,0±0,7	7,9±0,9	8,2±0,8
D	8,0±0,7	7,6±1,1	8,6±0,5
E	8,0±0,7	7,6±1,1	8,4±0,5
<b>Koku</b>			
K	6,8±1,3	6,4±1,3	6,6±1,3
A	7,6±0,5	6,8±1,3	7,2±1,1
B	7,2±1,3	6,8±0,8	7,0±1,2
C	7,4±0,9	7,0±1,2	7,8±0,8
D	7,8±1,1	7,4±0,9	7,0±0,7
E	7,4±0,9 <sup>b</sup>	7,4±0,9 <sup>b</sup>	5,8±0,8 <sup>a</sup>
<b>Aroma</b>			
K	7,0±0,7	6,6±1,7	5,6±0,5 <sup>AB</sup>
A	7,4±0,5	7,3±1,5	8,0±0,0 <sup>C</sup>
B	7,8±0,4 <sup>b</sup>	6,6±0,5 <sup>a</sup>	7,4±0,5 <sup>BC</sup>
C	7,6±1,3	6,6±1,5	6,2±0,8 <sup>BC</sup>
D	8,2±0,4 <sup>b</sup>	6,6±0,9	5,8±1,3 <sup>ABa</sup>
E	7,2±1,3 <sup>b</sup>	7,0±1,9 <sup>b</sup>	4,2±1,6 <sup>Aa</sup>

**Tablo 4.11. (Devam)** PAS içeceklerinde gerçekleştirilen duyu analizlerinin sonuçları (n=10)

Özellik	1. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )	14. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )	21. gün ( $\bar{x}\pm SS$ )
<b>Tat</b>			
K	6,8±0,8 <sup>b</sup>	6,8±0,8 <sup>b</sup>	4,8±0,4 <sup>ABa</sup>
A	7,0±1,4	6,8±0,8	8,2±0,4 <sup>C</sup>
B	7,6±0,5	6,8±0,8	7,0±1,0 <sup>BC</sup>
C	7,8±1,1	6,4±1,3	6,2±1,6
D	8,6±0,5 <sup>b</sup>	6,4±0,5 <sup>a</sup>	5,4±0,9 <sup>ABa</sup>
E	7,4±1,3 <sup>b</sup>	6,8±1,6	4,2±1,6 <sup>Aa</sup>
<b>Kıvam</b>			
K	8,2±0,8	7,6±1,3	8,2±1,1
A	8,6±0,5	7,6±1,7	8,0±1,0
B	8,0±1,0	8,2±0,8	8,2±1,1
C	8,2±0,8	8,2±0,8	7,8±1,1
D	8,2±0,4	7,8±1,3	8,6±0,5
E	8,6±0,5	7,8±1,3	8,6±0,5
<b>Renk</b>			
K	8,0±1,4	7,2±1,5	7,6±1,5
A	6,8±0,4	6,2±0,8 <sup>a</sup>	7,6±1,1 <sup>b</sup>
B	7,8±1,1	7,4±1,1	7,6±1,5
C	8,4±0,9	7,6±1,1	7,4±1,5
D	7,0±1,0	6,4±1,3 <sup>a</sup>	7,4±0,5 <sup>b</sup>
E	7,2±0,8	6,4±1,3 <sup>a</sup>	7,2±0,8 <sup>b</sup>
<b>Homojenite</b>			
K	8,6±0,5	7,6±1,3	7,6±1,5
A	8,2±0,8	7,4±1,7	7,6±1,5
B	8,4±0,5	8,0±1,0	7,6±1,5
C	8,4±0,5	8,0±1,0	7,2±1,6
D	8,4±0,5	7,8±1,3	8,6±0,5
E	8,6±0,5	7,6±1,7	7,6±1,5

**Tablo 4.11. (Devam)** PAS içeceklerinde gerçekleştirilen duyu analizlerinin sonuçları (n=10)

<b>Genel Kabul Edilebilirlik</b>			
K	7,6±1,1	6,4±1,5	5,8±0,8 <sup>AB</sup>
A	7,4±1,1	7,4±1,3	8,2±0,4 <sup>D</sup>
B	8,0±0,7 <sup>b</sup>	7,0±0,0 <sup>a</sup>	7,4±0,5 <sup>CD</sup>
C	7,8±0,8 <sup>b</sup>	7,0±1,0	6,0±0,0 <sup>BCa</sup>
D	8,2±0,4 <sup>b</sup>	7,2±0,8	5,6±1,3 <sup>ABa</sup>
E	8,2±1,3 <sup>b</sup>	7,4±1,5 <sup>b</sup>	4,4±0,5 <sup>Aa</sup>

\*Gruplar arası farklar büyük harfler ile günler arası farklar küçük harfler ile gösterilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Peynir Altı Suyu İçeceklerinin Üretimi Öncesi Yapılan Analizler

#### 5.1.1. Kara Mürver Meyvesinin Nem ve Kuru Madde Miktarı

Kuru madde ve nem tayini, gıdalardaki suyun belirli bir sıcaklıkta buharlaşması, nem içeriğinin kütle kaybının hesaplanması ve toplam ağırlık üzerinden bu kaybın çıkarılarak toplam kuru maddenin belirlenmesi ilkesine göre hesaplanır ve yüzde olarak ifade edilir (Uylaşer ve Başoğlu, 2016). Çalışmada kullanılan taze kara mürver meyvelerinin kuru madde oranı  $21,1 \pm 0,1$  ve nem oranı  $78,9 \pm 0,1$  olarak hesaplanmıştır.

Ferreira ve ark. (2022) kara mürver meyvesinin kimyasal kompozisyonunu incelediği bir çalışmada bu meyvenin 72,73-77,80 nem içeriğine sahip olduğunu rapor etmiştir. Costica ve ark. (2019) 5 farklı bölgede yetişen olgunlaşmış kara mürver meyvesi ile yaptıkları bir çalışmada meyvelerin kuru madde içeriğinin %16,06-%28,48 arasında ve ortalama değerinin %23,56 olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlar ile çalışmamızda elde edilen sonucun benzer olduğu görülmektedir. Diviš ve ark. (2015) 5 farklı *Sambucus nigra* L. türü ile yaptıkları çalışmada meyvelerin kuru madde içeriklerinin %13,6-%16,1 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir.

Kara mürver meyvesinin yetiştiği coğrafya, toprak yapısı, yükselti, sıcaklık gibi çevresel faktörler, meyve hasat edildikten sonraki muhafaza süresi ve koşulları meyvelerin içeriklerinde bazı değişiklikler meydana gelmesine sebep olabilir. Bu tür farklılıklar doğrultusunda meyvelerin kuru madde ve nem içeriklerinin de değişebileceği öngörülmektedir.

#### 5.1.2. Kara Mürverden Elde Edilen Ekstrakttaki Toplam Antosiyanin Miktarı

Kara mürver meyvesi, toplam ağırlığının %25-40'ı oranında antosiyanin içermektedir (Brønnum-Hansen ve Hansen, 1983). Kara mürverde bulunan antosiyaninler, özellikle siyanidin 3-sambubioside-5-glucoside, siyanidin 3,5-

glucoside, siyanidin 3-sambubioside ve siyanidin 3-glucoside, oksidatif hasara karşı önemli bir koruyucu etki sağlamakta ve endotel hücreleri, vasküler hastalıklarla ilişkili bazı başlangıç işlev bozukluklarını önlemektedir (Youdim ve ark., 2000).

Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, ekstraksiyon solventleri olarak süperkritik sıvıları kullanan bir ekstraksiyon yöntemidir. CO<sub>2</sub>, süperkritik sıvı ekstraksiyonu için toksisitesi veya yan etkisi olmayan tipik bir süperkritik çözücü olarak ifade edilmektedir. CO<sub>2</sub>, sıvılarla karşılaştırılabilir yoğunluğu, düşük viskozitesi ve güçlü yayılımı nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Goleroudbary ve Ghoreishi, 2016).

Bu çalışmada Süperkritik CO<sub>2</sub> yöntemi ile ekstrakte edilerek toz haline getirilen kara mürver özütlerinin toplam antosiyanin miktarı 174,796 mg/L seviyesinde bulunmuştur. Domínguez ve ark. (2020) klasik ekstraksiyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada mürver özlerinin total antosiyanin miktarını 28,8–64,6 mg/L aralığında saptamıştır. Seabra ve ark. (2010), fraksiyonlu yüksek basınçlı ekstraksiyon metodu ile kara mürverden antosiyanin özütü elde ettikleri çalışmada ekstrakttaki antosiyanin içeriğini 39-153 mg/g olarak bulmuştur. Kaack ve ark. (2008) farklı genotiplerdeki kara mürver meyvelerini HPLC metodu ile analiz ederek total antosiyanin miktarlarının 73,8-282,0 mg/L aralığında olduğunu saptamışlardır bulmuşlardır.

Çalışmalarda kullanılan metotların farklı olması antosiyanin içeriğini doğrudan değiştirdiği için farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Süperkritik CO<sub>2</sub> yöntemi oldukça verimli bir yöntem olsa da daha iyi sonuçlar için optimizasyon çalışmalarının yapılması, en uygun sıcaklık ve basınç altında en iyi antosiyanin oranlarına ulaşmayı sağlayabilir. Ayrıca ekstrakte edilen meyvenin hasatından laboratuvar ortamına getirilinceye kadar maruz kalacağı tüm çevresel etmenler de antosiyanin miktarını doğrudan etkileyebilmektedir.

### **5.1.3. Enkapsülasyon Verimliliği**

Antosiyaninlerin stabilitesi pH, sıcaklık, ışığın varlığı, metal iyonları, oksijen enzimleri, askorbik asit, şekerler ve bunların bozunma ürünleri, proteinler ve kükürt

dioksitten etkilenir ve bu nedenle biyoyararlanımları düşüktür (Fernandez-Lopez ve ark., 2013). Bu etkilerden korunmak ve biyoyararlanımı artırmak için antosiyaninlerin kapsüllemesi teknolojisi kullanılmaktadır ve yüksek enkapsülasyon verimliliği istenmektedir. Kapsülleme verimliliği, mikrokapsülleme sürecini karakterize eden en önemli parametrelerden biridir. WPI, antosiyanin kapsüllemeye iyi bir duvar malzemesi olup antosiyaninlerin stabilitesini, rengini ve antioksidan kapasitesini iyileştirebilmektedir (Ren ve ark., 2021).

Çalışmamızda elde edilen antosiyaninler dondurarak kurutma (freeze-dryer) yöntemi kullanılarak WPI ile enkapsüle edilmiş ve enkapsülasyon verimliliği %50,46 olarak bulunmuştur. Bryła ve ark., (2015), kara mürver özütünü fosfolipid nanopartiküller halinde kapsüllemiş ve enkapsülasyon verimliliğini ayçiçeği lesitini için %69, yumurta sarısı lesitini için %48 ve soya fasulyesi lesitini lipozomları için %25 olduğunu bildirmiştir. Zhao ve ark. (2017) antosiyaninleri süper kritik CO<sub>2</sub> yöntemi ile lipozomlarla kapsüle etmiş ve kapsülasyon verimliliğini %50,6 saptamıştır. Enache ve ark. (2020) kızılçik meyvelerinden antosiyanin ekstraktı elde etmiş ve bu antosiyaninleri dondurarak kurutma ile farklı oranlarda WPI, inülin ve kitosan kombinasyonu ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon verimliliğini ise %89,16±1,23 saptamışlardır. Koupantsis ve ark. (2014), kitosan ve WPI kombinasyonu ile enkapsüle edilen süt proteinlerinin kapsülleme verimliliğini %17,8-29,02 aralığında bulmuşlardır. Tao ve ark. (2017), farklı oranlarda WPI, maltodekstrin, β-siklodekstrin ve gum Arabic ihtiva eden kapsülleme ajanlarını kullanarak yaban mersini antosiyaninlerini enkapsüle etmişlerdir. Bu kapsüllemelerin verimliliği %47,0-%96,3 arasında değişim göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada kara mürverde bulunan antosiyaninleri enkapsülleme ajanı olarak β-glukan kullanılmış ve en yüksek (%93,9) enkapsülasyon verimliliği %0,5 β-glukan içeren grupta saptanmış, %3 oranında β-glukan ile enkapsülasyonda verimliliğin %77,9 olduğu saptanmıştır (Sobieralska ve Kurek, 2019).

Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile çalışmamızda saptanan enkapsülasyon verimliliği karşılaştırıldığında benzer kapsülleme oranlarının bulunduğu görülmektedir. Enkapsülasyon metotları ve kullanılan duvar materyallerinin farklılığı kapsülleme verimliliğini doğrudan etkileyebilir. Bir ürünün

maksimum verimlilikte kapsüllenebilmesi ve bu kapsüllerin yüksek kararlılık gösterebilmesi için optimizasyon çalışmaları yapılmalıdır.

#### 5.1.4. Kapsüllerin Morfolojik Özellikleri İçin SEM Analizi

SEM analizi ile gıdanın yüzey detayları elektronlar tarafından çok yüksek çözünürlükte görüntülenmekte ve diğer organik ve inorganik safsızlıklardan ayırt edilebilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Armutçu ve Esmeray, 2019). Kapsülleme işlemlerinde SEM analizi ile kapsüllerin dış yapıları incelenebilmektedir. Çalışmamızda elde edilen görüntüler sonucunda kapsüllerin morfolojik özellikleri değerlendirilmiş ve genel yapının homojen olmadığı belirlenmiştir. Bu oluşum kullanılan kapsülleme ajanının kohezif niteliğe sahip olmasına atfedilebilir (Rather ve ark., 2017). Şekil 3.1.a'da net bir şekilde görünen süngerimsi yapı ise buzun partiküllerden hızla süblimleşmesi ve buz kristallerinin yerinde gözeneklerin oluşması sonucu meydana gelir (Amine ve ark., 2014). Şekil 3.1.c-d'de ise serbest moleküllerin az olması antosiyaninlerin başarılı bir şekilde kapsüllendiğini göstermektedir.

Tao ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada antosiyaninleri farklı oranlarda maltodekstrin,  $\beta$ -siklodekstrin, gum arabic ve WPI içeren duvar malzemelerini kullanarak elde edilen kapsülleri SEM analizi ile görüntülemişlerdir. Çalışmada optimum formülasyonlar kullanılarak kapsüllemiş dört numunenin tümü düzensiz büzülme ile pürüzlü yüzeyler göstermiştir. Ayrıca tüm parçacıkların, çalışmamıza benzer şekilde dondurularak kurutulmuş katı malzemelerin tipik şekilleri olan camsı şekillere sahip olduğu görülmektedir. Bu camsı yapılar sayesinde kapsüllerin içerisinde yer alan antosiyaninler oksidasyona ve ısınmaya karşı korunabilmektedir. Sobieralska ve Kurek (2019),  $\beta$ -glukan ile enkapsüle ettikleri kara mürver antosiyaninlerin SEM analizlerini gerçekleştirmiş, %0,5  $\beta$ -glukan içeren mikrokapsüller pürüzsüz bir yüzeye ve toplanmış bir küreye sahip olduğunu ve %3  $\beta$ -glukan içeren mikrokapsüllerin daha yüksek yüzey pürüzlülüğüne ve gözenekliliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Deng ve ark. (2023), maltodekstrin ile gum arabic ve WPI kombinasyonları ile antosiyaninleri kapsüllemişler, kapsüllerin SEM analizinde görüntülerinde yüzeylerin pürüzsüz olduğunu ve herhangi bir çatlak olmadığını saptamışlardır.

## 5.2. Üretim Sonrası PAS İçeceklerinde Gerçekleştirilen Analizler

### 5.2.1. Deneysel PAS İçeceklerindeki Antosiyanin Miktarı

Antosiyaninler düşük stabiliteye sahip, kararsız bileşiklerdir. Bu nedenle ürünlerde depolama sürecine bağlı olarak miktarları azalabilmektedir. Mevcut çalışmada bu düşüşü en aza indirmek için antosiyaninler WPI ile kapsülendirilerek ürüne eklenmişlerdir.

Üretildikten sonra 28 gün depolanan PAS içeceklerinin 1. ve 28. gün antosiyanin miktarları incelendiğinde her iki analiz günü için de en yüksek antosiyanin miktarının A grubunda, en düşük antosiyanin miktarının E grubunda olduğu görülmektedir. A grubunun içeriğinde yalnızca whey proteinleri ve antosiyaninlerin bulunuyor olması antosiyaninlerin yapısını daha iyi koruyabilmesi ve etkileşime gireceği fazla bileşik olmamasından kaynaklanıyor olabilir. D grubunda bulunan probiyotik BC30'un, antosiyaninleri kullanarak farklı metabolitlere dönüştürmüş olabileceği düşünülmektedir. Antosiyaninler probiyotikler için karbon kaynağı sağlar ve bu nedenle probiyotikler tarafından metabolize edilirler (Wang ve ark., 2022). Oliveira ve ark. (2021), kurutulmuş çileklere *Bacillus coagulans* BC4 inokule ederek BC4'ün etkilerini inceledikleri çalışmada BC4 içermeyen grubun BC4 içeren gruba kıyasla daha yüksek antosiyanin içerdiğini saptamışlardır.

A ve D grubundan farklı olarak E grubunda inülin bulunması içeceğin yoğunluğunu artırdığından içecekteki toplam antosiyanin oranının daha az bulunmasına sebebiyet vermiş olabilir. Ayrıca ortamda inülinin bulunması antosiyanin miktarını azaltmış olabilir. Tomas ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada inülin ve pektin içeren böğürtlen püresi örneklerinde toplam monomerik antosiyanin miktarının kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır ( $p < 0,05$ ). Tomas ve ark. (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada inülin ve domates sosu etkileşiminin domates sosundaki toplam fenolik madde içeriğini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Diyet lifleri ve fenolik bileşikler arasındaki etkileşimler polifenollerin biyoaktiviteleri için sinerjik veya antagonist etki gösterebilir (Suharoschi ve ark., 2019). Fenolik bileşikler ve diyet lifleri arasındaki etkileşimler çoğunlukla hidrojen

bağı, van der Waals kuvvetleri, elektrostatik çekim, hidrofobik temas, güçlü kovalent bağ (esterleşme) yollarıyla gerçekleşmektedir (Suharoschi ve ark., 2019). Ayrıca polifenollerin polimerizasyon derecesi, molekül esnekliği, reaktif grup sayısı (hidroksil, glikosil, galloil vb.) ve diyet liflerinin parçacık boyutu, gözenekliliği ve yüzey özelliklerinin bu etkileşimi etkileyebileceği vurgulamaktadır (Zhu, 2018).

Çalışmamızda içecek grupları 28 gün boyunca 4°C’de muhafaza edilmiştir. Ancak düşük sıcaklıklar antosiyaninlerin stabilitesini daha iyi koruyabilmesini sağlar (Palencia-Argel ve ark., 2022). Urbano ve ark. (2019), -18 °C’de 120 gün boyunca depolanan probiyotik içeren jussara şerbetinde antosiyanin miktarında önemli bir değişim olmadığını ortaya koymuştur.

Miranda ve ark. (2020), BC30 içeren %20 jussara ve çarkıfelek ekstraktı ile hazırlanan jöle şekerlerin farklı analiz günlerindeki toplam antosiyanin değerlerine bakmışlar ve ilk gün 166,7±5,02 mg/100 g olan değerin her bir depolama gününde azalma göstererek 90. günde 128,63±9,29 mg/100g olduğunu saptamışlardır. Cheng ve ark. (2023), %7 oranında karadut suyu ekleyerek ürettikleri yoğurdun antosiyanin içeriğinin 1,581 mg/g olduğunu, 28 gün depolamanın ardından 1,093 mg/g’a düştüğünü rapor etmişlerdir. Antosiyanin miktarındaki bu düşüş antosiyaninlerin yoğurttaki diğer bileşenlerle etkileşime girebileceğini göstermektedir (Jing ve Giusti, 2005).

Antosiyaninlerin kararsızlığı, gıda endüstrisindeki uygulamaları için büyük bir zorluk oluşurmaktadır. Antosiyaninler aynı zamanda buldukları ortamdaki proteinler ile kompleks oluştururlar (Jing ve Giusti, 2005). Whey proteinleri ile kompleks hidrojen bağları oluşturarak etkileşime girmesi ölçülebilen antosiyanin miktarının düşmesine sebep olmaktadır (Ren ve ark., 2021).

### **5.2.2. Deneysel Peynir Altı Suyu Ieceğindeki Enkapsllenmiş Antosiyaninlerin Kararlılıkları**

Enkapsülasyon bileşiklerin kimyasal/biyolojik stabiliteleri artırabilen ve ayrıca bu bileşikleri gıda sistemlerinde kimyasal reaksiyonlara karşı koruyabilen etkili bir

yaklaşımıdır (Ye ve Augustin, 2019). Enkapsüle edilerek toz haline dönüşen ürün, yalnızca paketlenme ve depolama maliyetlerinin düşmesi değil, aynı zamanda antosiyaninlerin depolama stabilitesinin de artırması nedeniyle gıda şirketlerinin dikkat çekmektedir (Rezvankhah ve ark., 2020). Ancak zamanla antosiyaninlerin yapısının bozunması, depolama ömrü ve bulunduğu ortamın antosiyaninlerin kararlılığına etki edebileceği düşünülmektedir. Özellikle yüksek su aktivitesinin olduğu ortamlarda yüksek molekül hareketliliği ve kolay oksijen difüzyonu nedeniyle kararlılığın bozulacağı bildirilmektedir (Baeza ve ark., 2021).

Yapılan bu çalışmada PAS içeceklerinin muhafazanın ilk ve son günlerindeki antosiyanin bozunma sabiti, yarılanma ömrü ve kayıp oranları ortaya koyulmuştur (Tablo 4.3). Bozunma sabiti (k) en yüksek E grubunda (0,0147) saptanmıştır. Yarılanma ömrü E grubunda (50,2 gün) A ve D gruplarına kıyasla daha düşük seviyede belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). A, D ve E gruplarında antosiyanin kayıp oranları sırasıyla % 12,7±8,2, % 12,1±8,8 ve % 32,5±8,0 olarak bulunmuştur. Gruplar arası kayıp oranları karşılaştırıldığında A ve D grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p > 0,05$ ) ancak E grubundaki antosiyanin kaybının A ve D grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde ( $p < 0,05$ ) fazla olduğu görülmektedir. En fazla antosiyanin kaybının olduğu E grubu örneklerinin diğer gruplardan farklı olarak inülin içermesi ve kapsülasyonu bozulan antosiyaninlerin inülin ile etkileşime girmesi sonucu bu kaybın oluşabileceği düşünülmektedir.

Bir antosiyanin kapsülleme malzemesi olarak PAS proteini mikrojelleri, gastrointestinal sistemde hızla çözünebilmekte, antosiyanin salınımını ve bozulmasını engelleyen sıvı parçacıklar oluşturabilmektedir (Ren ve ark., 2021). Chung ve ark. (2015) ısıyla denatüre edilmiş WPI ve doğal WPI ile en iyi antosiyanin kararlılığı gösterileceğini bildirmiştir. Bunun nedeni antosiyaninlerin oksidasyonunun whey proteinlerindeki biyopolimerler tarafından baskılanması ile açıklanmıştır. Baeza ve ark. (2021) kara mürver meyvesindeki antosiyaninleri farklı kapsülleme ajanları (karragenan, maltodekstrin) ile enkapsüle ettikleri bir çalışmada düşük su aktivitesine sahip örneklerin tamamında 38°C'de 90 gün boyunca bütün antosiyaninlerin kararlılıklarını sürdürdüklerini tespit etmiştir. Su aktivitesinde artış ile antosiyaninlerin yaklaşık %65'inin kayba uğradığı bildirilmiştir. Bununla beraber yarılanma ömründe

hesaplanan değerlerin literatürden farklı bulunmasını antosiyaninlerin karakteristik özelliklerine bağlanmıştır. Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda E grubunda nem içeriğinin D grubuna oranla istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde ( $p<0,05$ ) daha yüksek olduğu fakat E grubunda antosiyanin kaybının daha fazla olduğu görülmektedir.

Casati ve ark. (2019) dondurularak kurutulmuş yaban mersini, kara mürver, frenk üzümü ve maqui berry meyvelerinin enkapsülasyonu ile polifenollerin ve antosiyaninlerin %68,2-99,6 arasında tutulmasını sağlayarak, biyoaktif bileşiklerin yüksek düzeyde kararlılık gösterdiğini bildirmiştir. Ribeiro ve ark. (2019) kitosan, sodyum alginat ve gum arabic kullanarak enkapsüle ettikleri kara mürver antosiyaninlerinin 8 ay boyunca kararlılıklarını sürdürdüklerini belirtmiştir. Meyvelerden püskürterek/dondurarak kurutma mikrokapsüllenmiş antosiyaninlerin antosiyanin içeriği ve depolama stabilitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada kapsüllenmiş antosiyaninlerin 25°C'de (karanlıkta) 90-180 gün arasındaki depolamadan sonra 0,33 ay ya da daha düşük su aktivitesinde %67-80 oranında kararlılık gösterdiği bildirilmiştir (Baeza ve Chirife, 2021). Zhao ve ark. (2021) antosiyaninler, rosmarinik asit, ksantan gum ve askorbik asit kullanarak geliştirdiği 4 farklı içecek grubunda antosiyanin kararlılığını belirlemiş, bozunma sabitini antosiyanin + askorbik asit, antosiyanin + rosmarinik asit + askorbik asit, antosiyanin + ksantan gum + askorbik asit ve antosiyanin + rosmarinik asit + ksantan gum + askorbik asit gruplarında sırasıyla 0,474, 0,172, 0,134 ve 0,085 olarak saptamışlardır. Andersen ve Markham (2005)'a göre bu durum antosiyanin + rosmarinik asit + ksantan gum üçlü komplekslerinin oluşumu, muhtemelen su tarafından kolayca saldırıya uğrayan ve ardından kimyasal bozunmaya neden olan flavilyum katyonunun oldukça elektrofilik C2-konumunu koruyarak antosiyanin kromoforunun kimyasal olarak korunması ile açıklanmıştır. Çalışmamızda E grubunda (0,0147) saptanan bozunma sabiti ile bu çalışmadaki bozunma sabitleri benzerlik göstermektedir. Bu nedenle antosiyanin ile inülin arasında da benzer bir ilişki olacağı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda ortaya çıkan farklı sonuçlar, antosiyaninlerin çok kararsız bileşenler olması ve farklı kaplama materyalleri, ısı, ışık, pH, metal iyonları, su aktivitesi gibi farklı ortam koşulları ile açıklanmaktadır. Bu çalışmada WPI kullanarak

geliştirilen içeceklerde antosiyanin kaybının %12,1-32,5 çıkması beklenen bir durumdur. Sonuç olarak whey proteini, kazein ve soya proteini izolatları, antosiyanin biyoyararlanımını iyileştirmek için farklı koruma mekanizmaları ile kararlılık üzerine olumlu etkiler göstermektedir.

### 5.2.3. Mikrobiyolojik Analizler

#### 5.2.3.1. TMAB Miktarı

TMAB miktarının tespiti, bir ürünün mikrobiyal kalitesinin ortaya konulmasında kullanılan en yaygın parametredir (ISO 4833:2003(E), 2003). Çalışmada muhafazanın 1. gününde TMAB sayısı 6,82-7,74 log<sub>10</sub> kob/mL seviyelerinde bulunmuş, en yüksek TMAB sayısı 9,06 log<sub>10</sub> kob/mL ile 28. gün B grubunda görülmüştür. 7. günde antosiyanin içeren gruplarda (A, D, E) istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde (p<0,05) azalma gözlenirken; K, B ve C gruplarında TMAB sayılarında artış görülmüş, C grubundaki artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlara göre PAS'a eklenen antosiyaninin içecekteki toplam bakteri yükü üzerinde azaltıcı etki gösterdiği düşünülmektedir.

Çalışmamızdan farklı olarak, Kanca ve ark. (2023), farklı oranlarda hazırladıkları PAS içeceklerinin TMAB sayısını tespit etmiş ve 14 günlük depolama süresince TMAB sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış (p<0,05) gözlemlenmişlerdir. Bu durumun, depolama süresince ortamda biriken laktik asidin, bakterilerin gelişimini olumsuz etkilemesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Tamuçay-Özünü ve Koçak, 2010). Vieira ve ark. (2020) keçi PAS ile yaptıkları çalışmada ısıtılardan sonra TMAB sayısını 1,82-5,57 log<sub>10</sub> kob/mL aralığında saptamış, 4°C'de 15 günlük depolama süresince TMAB sayısında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan (p>0,05) artış gözlemlenmişlerdir. Dinçoğlu ve Rugji (2021), PAS içeceğine farklı oranlarda gül yağı ekledikleri çalışmada farklı analiz günlerinde TMAB sayımları yapmışlardır. Başlangıçta en düşük 6,44 log<sub>10</sub> kob/mL olan TMAB sayısı 28 günlük depolamanın ardından 7,88 log<sub>10</sub> kob/mL seviyelerine ulaşmıştır. Fonseca ve ark. (2013), çiğ keçi sütünü 4°C'de 5 gün depolamış ve 1, 3 ve 5. günlerde TMAB sayısını analiz etmişlerdir. TMAB sayısı analiz günlerinde sırasıyla 5,6, 5,8 ve

6,3 log<sub>10</sub> kob/mL olarak bulunmuştur. Rugji ve ark. (2022), 28 gün depolanan PAS içeceklerinde 1. gün 8,69 log<sub>10</sub> kob/mL olan TMAB sayısının 7. günde artarak 8,81 log<sub>10</sub> kob/mL olduğu, 28. güne kadar azalma göstererek son analiz gününde 8,58 log<sub>10</sub> kob/mL seviyesine düştüğünü saptamışlardır.

Mikrobiyolojik kalite süt ürünlerinin kimyasal ve duyuşal özelliklerini doğrudan etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Depolamaya bağılı olarak artan bakteri yükü, raf ömrü boyunca içeceklerin bozulmasıyla güçlü bir şekilde ilişkilidir (Samaržija ve ark., 2012).

### 5.2.3.2. TPAB Miktarı

Ana kontaminasyon yolu, işleme tesisi ortamı ve ekipmanının yüzeyleriyle temas olan psikrofil bakteriler; soğuşa adaptasyon mekanizmalarına sahip, buzdolabı koşullarında saklama sırasında süt ve PAS ürünlerinde gelişebilen mikroorganizmalardır (Santorum ve ark., 2012).

Çalışmamızda 4 °C’de depolanan içeceklerde psikrofil bakterilerin büyümesi beklenen bir sonuçtur. Fakat içeceklere eklenen BC30, inülin ve antosiyaninler bu bakterilerin artmasını baskılayabilir. TPAB miktarlarına bakıldığında muhafazanın ilk gününde 4,52-4,63 log<sub>10</sub> kob/mL aralığında bulunan etken sayısı 7. günde tüm gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı derece artmıştır (p<0,05). Bunun, üretildikten sonra inkübasyona bırakılan ve 4 °C’de 1 gün depolanan içeceklerde psikrofil grubu bakterilerin hızlı artış göstermemesi, ancak 7 gün depolamadan sonra optimum koşullara ulaşarak daha iyi üreme göstermesinden kaynaklanabileceğı düşünölmektedir. Bu artış, yapısında herhangi bir ilave barındırmayan K grubunda her analiz gününde bir önceki analiz gününe göre düzenlilik arz etmiştir. Diğer grupların yapısında yer alan bileşenler psikrofil miktarında belli ölçülerde azalma veya artma yönünde değışimlere sebebiyet vermiş olmakla birlikte grupların tamamında muhafaza süresine bağılı olarak TPAB miktarları genel olarak artmıştır.

Fonseca ve ark. (2013), çığ keçi sütü ile yaptıkları çalışmada psikrofil grubu bakterilerin 5 gün depolama ile 4,7 log<sub>10</sub> kob/mL’den 6,3 log<sub>10</sub> kob/mL’ye

yükseldiğini saptamışlardır. Dinkova ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada yaban mersini ekstraktının ilk gün yaklaşık  $4,5 \log_{10}$  kob/mL olan TPAB sayısının 9 gün depolama sonunda yaklaşık  $5,5 \log_{10}$  kob/mL seviyesine ulaştığı fakat farklı enzimatik maserasyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlarda psikrofil mikroorganizmaların sayısında azalma olduğu görülmüştür. Yazarlar bu çalışmada enzim kullanılmadan elde edilen ekstraktlardaki antosiyanin miktarının diğer yöntemlerle elde edilen ekstraktlara oranla daha az olduğu ve bu durumun polifenollerin bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisini açıklamak için uygun olabileceğini belirtmişlerdir. De Jesus ve ark (2020), açai posalarını 28 gün depolayarak yaptıkları çalışmada başlangıçta  $5,21 \log_{10}$  kob/mL olarak bulunan psikrofil grubu bakterilerin 7. günde azaldığını fakat sonraki analiz günlerinde artarak 28. günde  $6,30 \log_{10}$  kob/mL seviyelerine ulaştığını belirtmişlerdir. Gasparini ve ark. (2020),  $7 \log_{10}$  kob/mL psikrofil bakteri içeren çiğ süt ile üretilen peynirlerin, bakterilerin proteolitik aktiviteleri sonucunda sertlik ve çiğnenebilirlik parametrelerinde ve protein fraksiyonlarında artış görüldüğünü, ancak artan TPAB sayılarının peynirlerin duyuşal kabulünü etkilemediğini belirtmişlerdir.

### **5.2.3.3. Koliform Grubu Bakteri Miktarı**

Koliform bakteriler, asit ve gaz üretimi ile laktozu fermente eden tüm aerobik ve fakültatif anaerobik gram negatif, spor oluşturmeyen bakterileri içerir. Katı bir besiyerinde (VRBA)  $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de 20-24 saat içinde en az 0,5 mm çapında koyu kırmızı kolonilerin gelişmesi, koliform bakterinin varlığının pozitif bir kanıtı olarak kabul edilmektedir (Jain ve ark., 2013). Koliform bakteriler özellikle fekal-oral yol ile bulaş gösterdiğinden düşük koliform bakteri sayımı gıdanın iyi bir hijyenik koşulda hazırlandığını göstermektedir. Aynı zamanda asidik ortam koşulları da ( $\text{pH}<4,5$ ) koliform bakterilerin üremesini inhibe etmektedir (Mahrous ve ark., 2016).

Çalışmamızda hazırlanan PAS içeceklerinin hiçbirinde koliform grubu bakterilere rastlanmamıştır (Tablo 4.4.). Ortaya çıkan bu durum örneklerin hijyenik koşullarda hazırlandığını, muhafaza süresince kontaminasyonun gerçekleşmediğini ve ürünün uygun sıcaklıklarda depolandığı göstermektedir. Atallah ve Gemiel (2020) meyve ve bazı bitkilerle hidrolize PAS esaslı gazlı içeceklerin mikrobiyolojik

kalitesini araştırmış ve koliform grubu bakterilere rastlamamıştır. Yapılan benzer çalışmalarda da fermente PAS içeceklerinde koliform grubu bakteriler tespit edilememiştir (Slozhenkina ve ark., 2020; Larionov ve ark., 2020). Ahmed ve ark. (2023) PAS-mango içeceklerinde mikrobiyolik analizleri gerçekleştirmiş ve 25 gün depolama ile koliform bakteri tespit etmemiştir. Bu nedenle üretilen ieeğin buzdolabında (4°C'de) güvenli bir şekilde saklanabileceğini ve uzun muhafaza sürelerinde tketelebileceğini bildirmiştir. M El-Aidie ve ark. (2020), şeker elma ile zenginleştirilmiş PAS içeceklerinde 21 gün boyunca koliform bakterilere rastlamamıştır.

Hankowa ve işkov (2020), 4-25°C arasında farklı sıcaklıklarda bir hafta boyunca muhafaza edilen PAS içeceklerinde sıcaklık artışına bağlı koliform bakteri sayımında artış olduğunu ve bunun ieekte organik asit ve alkollerin oluşmasına neden olarak istenmeyen kokuya neden olduğunu bildirmiştir. Sharma ve ark. (2021) ise deve ve keçi sütünden hazırlanan Aloe vera ve hindistan cevizi suyu bazlı PAS içeceklerinin mikrobiyal kalitesini değerlendirmiş, 12 gün muhafaza edilen içeceklerde koliform bakteri sayımı gerçekleştirmiştir. Çalışmada ilk 6 gün koliform bakterilere rastlanmazken 9. günde 2,3 ile 2,6 log<sub>10</sub> kob/mL ve 12. günde 2,5 ile 2,9 log<sub>10</sub> kob/mL arasında koliform bakteri sayımı olduğunu bildirmiştir.

#### **5.2.3.4. Maya-küf Miktarı**

Maya ve küfler doğada yaygın dağılım gösteren mikroorganizmalardır. Bunların birçoğu düşük pH değerlerinde varlıklarını koruyabilmekte, sakkaroz ya da laktozdan enerji kaynağı olarak yararlanabilmektedir. Bu nedenle yoğurt ve benzeri fermente ürünler maya ve küflerin gelişimine uygun ortamlardır. Üretim in çeşitli aşamalarında havadan kolayca bulaşan maya ve küfler depolama sırasında sayıca artış göstererek kaliteyi olumsuz yönde etkilemekte ve ürünün raf ömrünü azaltmaktadır (Grsel ve ark., 2004).

Mevcut çalışmada, muhafazanın 1. ve 7. gününde sadece K grubunda maya-küf tespit edilmiştir. K grubunda 1. günden 7. güne kadar maya-küf sayısı istatistiksel açıdan anlamlı lde artış göstermiştir. Diğer gruplarda 1. ve 7. günde maya-küf

tespit edilmemesinin sebebinin gruplarda bulunan bileşenlerin antimikrobiyal etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Muhafazanın devam eden günlerinde en yüksek maya-küf sayısı yine K grubunda ortaya çıkmıştır. Tüm gruplarda 14. günden 21. güne gelirken maya-küf sayısı istatistiksel açıdan anlamlı seviyede artış göstermiştir. Bu durum, içeceklerin depolamaya bağlı olarak bozulmaya başladığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. 28. günde ise en düşük maya-küf sayılarına sahip gruplar A ve B grupları olmuştur ve yalnızca K ve B grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Kanca ve ark. (2023), farklı oranlarda hazırlanmış PAS içeceklerinde 14 günlük depolama süreci boyunca maya-küf tespit etmemişlerdir. Dinçoğlu ve Rugji (2021), yaptıkları çalışmada whey içeceklerinin üretildiği ilk günde 6,08-6,43  $\log_{10}$  kob/mL arasında buldukları maya-küf sayımının depolamanın 28. gününde istatistiksel açıdan anlamlı ( $p<0,05$ ) bir şekilde artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Fakat meydana gelen bu artışın ihmal edilebilecek kadar düşük olduğu düşünülmektedir. Ismail ve ark. (2011) mango ilaveli PAS içeceklerinde 30 gün depolama süresince maya-küf sayısının ilk güne göre sürekli azaldığını saptamışlar. Yine aynı çalışmada depolama süresince içeceklerin asitlik oranlarının arttığı görülmüştür. Ortamda asitliğin artması mikroorganizmaların üremesini yavaşlatan ya da tamamen engelleyen bir etkendir (Olaimat ve Holley, 2012).

### **5.2.3.5. *Bacillus Coagulans* Miktarı**

Çalışmamızda probiyotik BC30 içeren gruplar (B, C, D ve E) incelendiğinde 1. gün sırasıyla 7,83±1,2, 7,43±0,0, 7,09±0,1, 7,51±0,1  $\log_{10}$  kob/mL BC30 tespit edildiği görülmektedir. İlk gün en yüksek BC30 sayısına sahip olan B grubu 7. günde azalma gösterirken, diğer gruplarda BC30 sayısı istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde artmıştır ( $p<0,05$ ). Bu durumun, gruplardaki inülin ve antosiyaninlerin BC30 üremesini teşvik etmesi ile alakalı olabileceği düşünülmektedir. 7. günde hem antosiyanin hem inülin içeren E grubunda en yüksek BC30 sayısına ulaşılmıştır (9,14±0,0  $\log_{10}$  kob/mL). Fakat 14. günde BC30 sayıları tüm gruplarda azalmıştır. İlerleyen depolama günlerinde artan diğer mikroorganizmalar rekabet ortamı oluşturarak BC30'un üremesini engellemiş olabilir. 14. ve 21. günler arasında BC30

sayılarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmazken, 28. gün analizlerinde C grubunun  $8,10 \pm 0,0 \log_{10}$  kob/mL ile en fazla BC30 içeren grup olduğu görülmektedir. Tüm grupların BC30 sayısı 28. günde artış göstermiştir. Fakat E grubunda BC30 sayısının istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde azaldığı görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Bu durum, E grubunda diğer mikroorganizmaların daha fazla artmasından ya da bu grupta bulunan antosiyanin ve inülinin etkileşime girerek antagonist etki oluşturabileceğinden (Tomas ve ark., 2020) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamıza benzer bir şekilde Rugji ve Dinçoğlu (2022), BC30 ilave ettikleri beyaz salamura peynirlerde etken sayısının muhafazanın ilk gününden 90. gününe kadar azaldığını ( $p < 0,05$ ) ve son günde en yüksek BC30 sayısının  $6,82 \log_{10}$  kob/mL ile inülin içeren grupta görüldüğünü belirtmişlerdir.

Cao ve ark. (2022), BC30 eklenmiş yoğurt numuneleri ile yaptıkları çalışmada 14 gün depolanan yoğurtların depolama süresi boyunca BC30 seviyelerinin sabit kaldığını ( $p > 0,05$ ) belirtmişlerdir. Sekhavatizadeh ve ark. (2019), BC30 içeren kaşar peyniri ile yaptıkları çalışmada depolama süreci boyunca toplam BC30 sayısının azaldığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmaya benzer şekilde Ehsannia ve Sanjabi (2016), *B. coagulans* eklenmiş peynirlerin özelliklerini değerlendirmiş ve depolama süresi arttıkça *B. coagulans* sayısının önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Saklama koşulları, sıcaklık, oksijen, asitlik ve nem içeriği gıdalarda probiyotiklerin canlılığını doğrudan etkilemektedir (Shah, 2000).

#### **5.2.4. Fiziko-Kimyasal Analizler**

##### **5.2.4.1. Toplam Azot ve Protein Oranları**

Whey içeceklerinde toplam protein tayini Kjeldahl yöntemi ile toplam azot miktarının saptanması ve azottan proteine dönüşüm faktörü ile toplam protein miktarının saptanması ile belirlenmektedir. Süt ve ürünlerinde azottan proteine dönüşüm faktörü 6,38 olarak uygulanmaktadır (AOAC, 2005). Buna göre deneysel PAS içeceklerinde en düşük protein miktarı K ( $\%7,5 \pm 0,1$ ) ve en yüksek protein miktarı D grubunda ( $\%10,6 \pm 0,1$ ) saptanmıştır (Tablo 4.5.).

Yapılan bir çalışmada gül yağı ilaveli probiyotikli fermente PAS içeceğinde protein değerleri  $0,15\pm 0,15$  ile  $0,68\pm 0,02$  arasında saptanmıştır (Dinçoğlu ve Rugji, 2021). Ahmed ve ark. (2023) whey-mango karışimli fonksiyonel içecek ürünü üzerinde depolamanın fiziko-kimyasal etkilerini incelediği bir çalışmada %70 whey içeren içeceklerde toplam protein oranını depolamanın ilk gününde  $7,66\pm 0,01$ , 25. günde ise  $7,58\pm 0,01$  olarak belirtmişlerdir. Whey içeceklerindeki toplam protein oranının yüksek olması içecek üretiminde kullanılan whey protein izolatlarındaki toplam protein oranının artması ile açıklanmıştır. Islam ve ark. (2021) farklı tipte probiyotik PAS-ananas içeceklerinin fiziko-kimyasal değerlendirmesini yapmış ve içeceklerdeki protein oranlarının  $0,61\pm 0,22$  ile  $1,48\pm 0,24$  arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

#### 5.2.4.2. Titrasyon Asitliği Değerleri

Gıda ürünlerinde pH ve asitliğin kontrolü önemlidir, çünkü bu özellikler gıdanın fizikokimyasal ve mikrobiyolojik stabilitesini etkilemektedir. Asit ortamı birçok bakteri türünün büyümesini engelleyebilmekte, aynı zamanda süt ürünlerinde proteinlerin stabilitesini bozmaktadır. Bununla beraber asitliğin gıdada artması raf ömrüne bağlı mikrobiyolojik bozulmanın bir göstergesi olarak da indikatör görevi görebilmektedir (Awuah ve ark., 2007).

Her bir içecek grubu için her analiz günü yapılan titrasyon asitliği ölçümleri sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.6.'da gösterilmiştir. Titrasyon asitliği ölçümlerinde 1. gün K, C ve D grupları diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde fazla asitliğe sahip bulunmuştur. 7. günde B ve D gruplarının asitliği artış göstermiş, 14. günde ise tüm grupların asitlik düzeyleri artmıştır. Bunun sebebinin ilerleyen depolama günlerinde ürünün bozulmaya başlaması olabileceği düşünülmektedir.

Guimaraes ve ark. (2019) ekşi otu (*Annona muricata*) PAS içeceğinde prebiyotik etkilerini incelediği bir çalışmada içeceklerin titrasyon asitliğini sitrik asit cinsinden  $0,50\pm 0,10$  ile  $0,56\pm 0,03$  arasında saptamıştır. Yapılan başka bir çalışmada da PAS ve ananas kullanarak bir fonksiyonel içecek geliştirilmiş, içeceklerin titrasyon

asitliği değerlerinin laktik asit cinsinden  $0,65\pm0,02$  ile  $0,74\pm0,02$  arasında raf ömrüne bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (Islam ve ark., 2021). Bunun sebebinin iğeeklerde bulunan basit şekerlerin probiyotikler tarafından metabolize edilerek ürdünün asitliğinin artması olabileceği dűřünölmektedir. Bu çalışmada aynı zamanda asitlik ile kuru madde ve protein arasında negatif korelasyon olduğu belirtilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu şekilde bir etki gözlemlenmemiştir.

Naik ve ark. (2023) PAS-havuç bazlı fonksiyonel iğeek geliştirmiş ve ürdünün fiziko-kimyasal özelliklerini incelemiştir. Çalışmada iğeek gruplarının titrasyon asitliği değerlerinin  $0,018$  ile  $0,036$  arasında olduğu ancak depolama ile ürdünlerin titrasyon asitliği ve pH değişimleri arasında önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir. Bununla beraber asitlikteki değişikliğin olası nedeni olarak, laktoz ve proteinin laktik asit ve amino asitlere dönüştürölmesi olabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde Oliveira ve ark. (2022), portakal suyu PAS iğeeginin 21 günlük depolama süresi boyunca asitlikte artış gözlemlenmiştir.

Dinçoğlu ve Rugji'nin (2021) gül yağı ve probiyotik ilavesi ile ürettikleri fonksiyonel PAS iğeeginde, üretimin ilk gününde titrasyon asitliği değerlerinin laktik asit cinsinden  $0,31\pm0,01$  ile  $0,38\pm0,01$  arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde muhafazanın 28. gününde iğeeklerin titrasyon asitliği değerlerinde artış olmuş ve bu değerler  $0,37\pm0,02$  ile  $1,58\pm0,02$  arasında saptanmıştır.

#### **5.2.4.3. pH Değer**

PAS iğeeklerinde pH gıdanın duyuşal özelliklerini etkilemekte ve bu durum ürdünün tüketilebilirliği açısından önem arz etmektedir. Mevcut çalışmadaki iğeek gruplarının pH değerleri incelendiğinde (Tablo 4.6.) muhafazanın ilk günü en düşük pH değerinin göröldüğu B grubu örneklerinin ( $6,98$ ), 28. günde en yüksek pH değerine sahip olduğu saptanmıştır ( $7,44$ ). Muhafaza süresine bağlı olarak B ve C grubu hariç tüm grupların pH değerleri düşüş göstermiştir.

Guimaraes ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada PAS içeceklerinin pH değerlerini  $5,4\pm 0,0$  ile  $5,41\pm 0,0$  aralığında saptamışlardır. Bu çalışmada pH'nin düşük olmasının nedeninin kullanılan prebiyotik gıda ile açıklanmıştır. Islam ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada PAS içeceklerinin pH değeri ilk gün için  $4,3\pm 0,0$ ; 35. gün için  $3,5\pm 0,0$  olarak saptanmış, raf ömrünün azalmasında en önemli faktörlerden birinin titrasyon asitliği ve pH olduğu bildirilmiştir. Naik ve ark. (2023) PAS-havuç bazlı içeceklerinin pH değerlerinin 5,5 ile 6,5 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Dinçoğlu ve Rugji (2021), PAS içeceklerin pH değerlerinin üretimin ilk gününde  $5,07\pm 0,02$  ile  $5,25\pm 0,02$  arasında, 28. günde ise  $4,47\pm 0,03$  ile  $5,14\pm 0,04$  arasında değiştiğini, gül yağı içeren grupların pH değerlerinin diğer gruplara göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada saptanan düşük pH değerlerinin probiyotik bakterilerin aktivitesinin yanı sıra gül yağının varlığıyla da ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir.

Farklı fonksiyonel içecek ürünlerinde farklı titrasyon asitliği ve pH değerlerinin olduğu görülmektedir. Bunun temel nedeni ürüne fonksiyonellik katan bileşenlerin, ürünlerin raf ömrünün ve ürünlerdeki mikrobiyolojik faaliyetlerin olduğu söylenmektedir. Yapılan bu çalışmada ürünlerin daha düşük asitlik değeri göstermesi duyusal değerlendirmeye yansımış ve duyusal değerlendirmede bütün içecekler üretimin ilk gününde yüksek puanlar alırken, üretimin 21.gününden itibaren göreceli olarak daha düşük puanlar ortaya çıkmıştır.

#### **5.2.4.4. Antioksidan Kapasite Miktarı**

Çalışmamızda antosiyanin içeren grupların diğer gruplara göre daha yüksek antioksidan kapasite göstermesi, içeceklerde çok düşük dozda kullanılmış olsa dahi antosiyaninlerin antioksidan kapasiteyi önemli ölçüde artırabildiğini ortaya koymaktadır.

AbdulAlim ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de soğuk depolama sırasında PAS içeceklerinin DPPH-radikal süpürme aktivitesi (RSA) üzerinde farklı oranlarda karadut suyu eklemenin antioksidan aktiviteyi artırdığını bildirmişlerdir. Eklenen karadut miktarı arttıkça % RSA artış göstermiş, ilk gün %20,6-94,4 aralığında

olan RSA değerleri 21 gün depolama sonunda %7,8-50,4'e kadar düşmüştür. Ali ve ark. (2015), PAS içeceklerinde Moringa yaprağı ekstraktının farklı oranlarda kullanımında DPPH aktivitesinde tutarlı farklılıklar gözlemlemişlerdir. İlk analiz gününde yaklaşık %77-99 aralığında bulunan RSA değeri kontrol grubu için muhafazanın ilerleyen günlerinde azalırken, Moringa yaprağı içeren içeceklerde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim olmamiştır ( $p>0,05$ ). Purkiewicz ve Pietrzak-Fiećko (2021), PAS içecekleri ile yaptıkları antioksidan kapasite çalışmasında %79,32 ile yeşil meyve ve sebze içeren ev yapımı PAS içeceklerin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu, kırmızı meyve ve sebze içeren market iři PAS ieğinin %7,35 ile en düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Campos ve ark. (2017), aai zml fermente süt ve yoğurt ile yaptıkları çalışmada antioksidan aktivitenin antosiyaninler ile mkemmел bir korelasyon gösterdiğini ve bu bileşenlerin azalmasıyla antioksidan aktivitenin düştüğünü belirtmişlerdir.

#### **5.2.4.5. Kuru Madde ve Nem Oranı**

Kuru madde tayini, gıdanın standartlara uygun olup olmadığının belirlenmesi ve stabilitesinin veya muhafaza süresinin tespit edilmesi nedeniyle genellikle yüksek nem içeriğine sahip gıdalarda yapılan bir analizdir. Çalışmada retilen PAS içeceklerinin kuru madde oranları incelendiğinde (Tablo 4.8.) A, C ve E gruplarında ilerleyen depolama günlerinde kuru madde içeriklerinin istatistiksel açıdan anlamlı ( $p<0,05$ ) şekilde arttığı görülmüştür. En fazla kuru madde oranına sahip grup 28. günde %18,96 ile E grubu, en az kuru madde içeriğine sahip grup ise muhafazanın ilk gününde %15,39 ile K grubu olmuştur. Bunun E grubunda hem antosiyanin hem inülin bulunmasından ve mikrobiyolojik aktiviteler sonucu kuru madde oranının artmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Rugji ve ark. (2022), %20 oranında hazırlanan ve 4°C'de 28 gün analiz edilen PAS içeceklerinin kuru madde oranlarını %17,67-17,70 aralığında bulmuşlardır. Kanca ve ark. (2023), PAS ve süt ile hazırladıkları içeceklerde PAS oranı arttıķa kuru madde miktarının azaldığını gözlemlemiş ve bunun sebebinin PAS'ta süte oranla daha

az yağ, protein ve mineral içeriği bulunmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Sthavarmath ve Puranik (2018), nar ile zenginleştirilmiş PAS içecekleri ile yaptıkları çalışmada nar eklenmemiş PAS'ın %11,40, nar eklenmiş PAS'ın ise %12,20 kuru madde içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Gıdalarda kuru madde ve nem oranı muhafaza sürecinde üründe meydana gelen metabolik faaliyetler hakkında bilgi veren parametrelerdendir. Gıdanın yapısında bulunan bakterilerin lipolitik ve proteolitik aktiviteleri sonucu kuru madde oranlarında düşüş meydana gelebilmektedir. Çalışmamızda bütün gruplarda muhafaza süresi ile kuru madde arasında pozitif bir ilişki olduğu görülmektedir. Kuru madde oranı en fazla artan grubun E grubu olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni olarak E grubunda bulunan enkapsüle antosiyanin ve *B. coagulans*'ın antibakteriyel etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### **5.2.4.6. Viskozite Düzeyleri**

Süt ve süt ürünlerinden elde edilen içeceklerin üretiminde doku, viskozite ve sertlik gibi reolojik özelliklerini sağlamak için stabilizatörlerin kullanılması tavsiye edilmektedir (Lee ve Lucey, 2010). Bu nedenle süte kıyasla daha düşük katı içeriğe sahip olması nedeniyle PAS'tan yapılan içeceklerde doğal ve yapay stabilize edici ajanlar kullanılmaktadır (Oliveira ve ark., 2018; Silveira ve ark., 2015). Aynı zamanda viskoziteyi etkileyen faktörler esas olarak içeceğin toplam katı ve lifli bileşenlerinden etkilenmektedir (Tanwar ve ark., 2022). Yapılan bu çalışmada içecek gruplarının farklı hızlarda birbirine benzer viskozite gösterdiği görülmektedir. 160 ve 180 rpm'de en düşük viskozite K grubunda (24 mPa.s) saptanırken E grubu içecekler 180 ve 190 rpm'de en yüksek viskoziteye (27 mPa.s) sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 4.9.).

Yanes ve ark. (2002), çikolatalı sütlü içeceklerin reolojik davranışını gözlemlemiş, viskozitenin 25°C sıcaklıkta 2,7-18,7 mPa.s arasında değiştiğini ve 5°C sıcaklıkta viskozitede bir artış olduğunu rapor etmiştir. Rocha ve ark. (2018), jabuticaba antosiyaninleri içeren whey içecekleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada %0,5; %2, %4 ve %6 oranında whey içeren içeceklerde viskozite değerlerini sırasıyla <20,0; <20,0; 21,0 ve 62,0 mPa.s olarak saptamışlardır. Şen ve Yüceer (2019) kefir

kullanarak geliştirdikleri whey ieeği örneklerinde ilk gün  $1,37\pm 0,0$ ,  $1,38\pm 0,1$ ,  $1,64\pm 0,1$  ve  $1,61\pm 0,1$  cP viskozite değeri saptamış, raf ömrüne bağlı olarak ise viskozitede artış olduğunu rapor etmişlerdir. Tanwar ve ark. (2022), PAS bazlı mango suyundan hazırlamış oldukları fonksiyonel ieeğin viskozitesini  $12,86\pm 0,2$  ile  $13,66\pm 0,0$  mPa.s arasında tespit etmişlerdir. Rugji ve ark. (2022), iki farklı prebiyotik ve probiyotik ile karışımlar halinde hazırladıkları fonksiyonel whey içeceklerinde sadece whey içeren grupta viskozite değerini 200 rpm'de 14,5 mPa.s olarak saptamışlardır. 140 rpm'de ise bütün gruplarda yaklaşık 8 mPa.s viskozite bildirmişlerdir. Vargas-Dıaz ve ark. (2023) tagatoz ile tatlandırılmış PAS'tan fermente bir içecek geliştirdikleri çalışmada 3000 rpm'de kayma hızında görünür viskozite değerlendirildiğinde, 5,8 mPa.s ve 7,9 mPa.s viskozite değerleri elde edilmiştir. Sonuç olarak whey içeceklerinin toplam kuru madde içeriklerinin, pH ve titrasyon asitliği değerlerinin benzer olması viskozite değerlerinin de benzer çıkmasını açıklamaktadır.

Bu sonuçlar ile hazırlanan içeceklerin duyusal olarak kabul doğrudan etkilenebilmektedir.

#### **5.2.4.7. Renk Değerleri**

Peynir altı suyu doğası gereği yüksek riboflavin içerdiğinden sarı-yeşil renge sahip bir içecektir (Yerlikaya ve ark., 2010). Bu nedenle katkısız bir PAS ieeğinin renk analizlerinde -a ve +b değerleri vermesi beklenir. Çalışmada kullanılan PAS içeceklerinin K gruplarında a\* değerleri -3,98; b\* değerleri 4,58 olarak saptanmıştır. Antosiyanin eklenen gruplarda (A, D, E) a\* değerleri 0'a yaklaşarak sırasıyla -1,54; -1,71 ve -1,3 bulunmuştur. İçecek gruplarının b\* değerine bakıldığında ise yalnızca A grubunun K ile istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı ( $p < 0,05$ ) olduğu görülmektedir. a\* ve b\* değerlerinde diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemektedir ( $p > 0,05$ ). L\* değerlerinde (53,3-56,9) ise tüm gruplar birbirine yakın sonuçlar göstermiştir ( $p > 0,05$ ).

Jing ve Giusti (2005), mor mısır koanlarından elde edilen antosiyanin açısından zengin özütleri yağsız süte 35mg/100mL oranında ekleyerek yaptıkları çalışmada L\* değerini 56,2; a\* değerini 3,2 ve b\* değerini -2,3 saptamışlardır. Bu

çalışmada eklenen antosiyanin özütü miktarının fazlalığı rengin daha kırmızı olmasını ve dolayısıyla  $a^*$  değerinin fazla çıkmasını sağlamış olabilir.  $L^*$  değerinin ise çalışmamıza benzer şekilde bulunduğu görülmektedir. Wang ve ark. (2023), gül antosiyaninleri ekstraktı içeren PAS ile yaptıkları çalışmada  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin artan PAS konsantrasyonuyla azalma gösterdiğini belirtmişlerdir. Jaboticaba antosiyaninlerinin %2 oranında PAS içeceklerine eklenerek yapılan bir başka çalışmada  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri pozitif değer göstermiş ve artan PAS konsantrasyonu ile  $L^*$  değerinin de artma eğiliminde olduğu görülmüştür (Rocha ve ark., 2018).

### 5.2.5. Duyusal Değerlendirmeler

Peynir altı suyunu çeşitli süt ürünlerinin bileşimine dahil etmek için çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen, içecek endüstrisinde tüketim miktarını artırmak için hala çok fazla çalışma alanı vardır. Son yıllarda çeşitli bileşenlerin eklenmesiyle PAS içeceklerinin hazırlanmasına ilişkin çok sayıda patent tescil edilmiştir. Örneğin, çeşitli turuncgiller, tropikal meyveler (mango, muz, greyfurt, papaya, mandalina, vb.) ve çilek, elma, kiraz, armut, kayısı veya kavun gibi diğer meyveler PAS içeceği geliştirmek için uygulanmıştır (Djurić ve ark., 2004). Fakat PAS tek başına hoş giden renk, tat ve koku gibi iyi duyusal özelliklere sahip değildir. Bu nedenle hem duyusal özelliklerini ve gıda kalitesini geliştirmek için çeşitli bileşenler eklenmektedir. Nihai ürünün fonksiyonel özellik kazanmış olması önemli olsa da tüketiciler tarafından tüketilebilir ya da kabul edilebilir olması da son derece önemlidir. Ren ve ark. (2021) tarafından yapılan bir derlemede antosiyaninlerle kombinasyon halinde kullanılan protein konsantrasyonlarının, yiyecek ve içecek ürünleri için çok önemli parametreler olan antosiyanin-protein komplekslerinin reolojik ve duyusal özelliklerini etkiledikleri için hala optimize edilmesi gerektiği rapor edilmiştir.

Mevcut çalışmada panelistler PAS içeceklerini görünüm, tekstür, koku, aroma, tat, kıvam, renk, homojenite ve genel kabul edilebilirlik parametreleri yönünden değerlendirmişlerdir. Panelistlerin görünüm, tekstür, kıvam ve homojenite parametrelerine verdikleri puanların gruplar ve günler arasında benzer olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Genel kabul edilebilirlik parametresi açısından panelistlerin verdiği puanlar incelendiğinde

yalnızca B grubunda istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde düşüş olduğu görülmektedir. Muhafazanın ilk gününde 8.2 ile en yüksek puanları alan D ve E grubu örnekleri 21. günde ise 5.6 ve 4.4 ile en düşük puan seviyelerinde kalmışlardır. Bu grupların 21. günde düşük tat ve aroma puanları alması, genel kabul edilebilirlik seviyelerinin de aşağıda kalmasını doğrudan etkilemiştir. 21. günde en yüksek genel kabul edilebilirlik değerini A (8.2) ve B (7.4) grubu örnekleri almışlardır ( $p>0.05$ ).

Islam ve ark. (2021) PAS-ananas içeceklerinin ortalama puanları renk ve görünüm, tat, ağız hissi, tatlılık ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirmiş ve istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar belirlemiştir. Fakat puanlama 0-5 arasında değerlendirilmiş ve sonuçlar grafik olarak sunulmuştur. Grafik incelendiğinde PAS-ananas içeceklerinin muhafaza esnasında zamanla daha düşük puanlar aldığı görülmektedir. Çalışma sonunda Islam ve ark. (2021) üretilen içeceklerin gıda teknolojisi açısından önemli bir sonuç olduğu vurgulanmıştır. Mevcut çalışmanın duyusal analiz sonuçları ile de PAS içeceklerinin yeni bir fonksiyonel içecek olma potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmektedir.

Dinçoğlu ve Rugji (2021) gül yağının probiyotik fermente PAS'ta fonksiyonel gıda olarak kullanımı üzerine yaptıkları çalışmada panelistlerden içecekleri duyusal olarak değerlendirmelerini istemişlerdir. Panelistlerin PAS içeceklerine verdikleri puanlar incelendiğinde 'genel kabul edilebilir' parametresi için üretimin ilk gününde en düşük puanı kontrol grubunun ( $2,38 \pm 0,54$ ) aldığını belirlemişlerdir. Benzer sonuçlar 7, 14, 21 ve 28. analiz günlerinde belirlenmiş ve sırasıyla  $2,00 \pm 0,47$ ,  $1,81 \pm 0,36$ ,  $1,75 \pm 0,39$  ve  $1,63 \pm 0,45$  olarak rapor edilmiştir. En düşük puanları kontrol grubu almış olmanın yanı sıra içeceklerin muhafazası ile puanlarda doğrusal olarak azalma olduğu görülmektedir. Ayrıca panelistlerin deneysel PAS içeceklerine en yüksek  $4,69 \pm 0,55$  puan verdikleri görülmektedir. Çalışmamızda ise panelistlerin 21. günde PAS içeceklerine verdikleri en yüksek puanın  $8,2 \pm 0,4$  (A grubu) ve en düşük puanın  $4,4 \pm 0,5$  olduğu (E grubu) görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda PAS içecekleri muhafazanın ilerlemesine bağlı olarak daha düşük puanlar almış olsa da Dinçoğlu ve Rugji (2021)'in çalışmasına kıyasla yüksek puanlar aldığı söylenebilir.

Ujala ve Bajaj (2022) kızılılık takviyeli PAS ieeğinin soğutulmuş koşullar altında depolama stabilitesi ile lezzet, renk, görünüş ve genel kabul edilebilirlik yönünden duyuşal özelliklerini incelemiştir. Kızılılık özü içeren ve içermeyen (kontrol) PAS içecekleri için yapılan duyuşal değerlendirmeler, depolama süresinin artmasıyla kızılılık özü içeren örneğın lezzet puanının düştüğünü ancak depolama sonunda bile kontrol örneğinden daha yüksek puanlara sahip olduğunu göstermiştir.

Ahmed ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada PAS-mango içeren içecekleri panelistlerin renk, lezzet, tat, görünüş ve genel kabul edilebilirlik yönünden 1-9 arasında değerlendirmesine sunmuştur. Panelistlerin içeceklere verdikleri puanların muhafaza süresi ile orantılı olarak azaldığı saptanmıştır. Deneysel içecek gruplarının en yüksek puanı muhafazanın ilk gününde  $6,87\pm0,04$  en az PAS (%60) ve en yüksek mango (%20) içeren grupta olduğu belirlenmiştir. %70 ve %80 oranında PAS içeren gruplarda muhafazanın ilk gününde sırasıyla  $6,20\pm0,03$  ve  $6,05\pm0,03$  olduğu bildirilmiştir. Analizlerin 25. gününde ise bütün içecek gruplarında genel kabul edilebilirlik puanları 3'ün altında saptanmıştır.

Sonuç olarak duyuşal değerlendirmenin geliştirilen yeni fonksiyonel ieeğın kabul edilmesinde en önemli parametrelerden biri olduğu söylenebilir. PAS içecekleri hoşa giden duyuşal özellikler taşımasa da ieeğe eklenen bileşenler ile tüketilebilirliğin arttığı söylenebilir. Yapılan çalışmalarda farklı gıda bileşenleri ve hedonik skalaların kullanılmış olmasının yanında sayısal veriden ziyade grafik sunumların paylaşılması etkili bir tartışmanın yapılmasına engel olmaktadır. Fakat yine de farklı PAS içeceklerinin raf ömrünün ilerlemesine bağlı olarak tüketim isteklerinin azaldığı söylenebilir. İçeceklerin muhafazasına bağlı mikrobiyolojik faaliyetlerin olması içeceklerin pH, asitlik, renk, koku, aroma, viskozite gibi sonuçlarını etkilemektedir. Bu parametreler de doğrudan duyuşal değerlendirmelere yansımaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada kara mürver meyvesinden elde edilen antosiyaninlerin WPI ile enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve *B. coagulans* ve/veya inülin ile zenginleştirilmiş 6 farklı PAS içeceği grubu elde edilmiştir. Antosiyanin ekstraksiyonunda yaygın bir yöntem olan süper kritik CO<sub>2</sub> yöntemi kullanılmış ve özütteki toplam antosiyanin miktarı 174,796 mg/L bulunmuştur. Antosiyaninler oldukça kararsız bileşikler olduğundan enkapsüle edici ajanlardan biri olan WPI'lar ile enkapsülasyon gerçekleştirilmiş ve enkapsülasyon verimliliği %50,46 olarak belirlenmiştir. Enkapsüle edilen antosiyaninler SEM ile görüntülenmiştir.

Deneysel PAS içeceklerinde kullanılan her bir bileşiğin bağımsız etkisi ve birbirleriyle olan etkileşimlerini göstermek için enkapsüle edilen antosiyaninlerden kontrol (sadece PAS), PAS + antosiyanin (A), PAS + *B. coagulans* (B), PAS + *B. coagulans* + İnülin (C), PAS + antosiyanin + *B. coagulans* (D) ve PAS + antosiyanin + *B. coagulans* + İnülin (E) olmak üzere 6 farklı PAS içeceği elde edilmiştir. Antosiyanin içeren gruplarda (A, D ve E) muhafazanın ilk ve son günü antosiyanin miktarları ölçülmüş, elde edilen sonuçlar antosiyanin kararlığında ve miktarında azalmalar olduğunu göstermiştir. En fazla antosiyanin kaybı E grubunda tespit edilmiştir.

PAS içecek grupları muhafazanın 1, 7, 14, 21 ve 28. gününde mikrobiyolojik yönden analiz edilmiştir. Muhafazanın ilk gününde 6,82-7,74 log<sub>10</sub> kob/mL aralığında olan TMAB sayısı, en düşük seviyeyi 5,52 log<sub>10</sub> kob/mL ile 7. günde A grubunda göstermiş olup, diğer gruplarla kıyaslandığında bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Yalnızca K grubu TMAB miktarı muhafaza süresince sürekli artarken, muhafazanın 14. gününden itibaren B ve C gruplarındaki sayılarda düzenli olarak yükselmiştir (p<0,05). Deneysel PAS içeceklerinin ilk analiz gününde TPAB sayıları 4,52-4,63 log<sub>10</sub> kob/mL olarak bulunmuştur. Yedinci günde bu sayılar her grup için istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde artış gösterirken (p<0,05), yalnızca K ve C grubunda TPAB sayıları sürekli artmış olup, en yüksek TPAB sayıları 21. günde 9,11-9,13 log<sub>10</sub> kob/mL ile A ve D gruplarında saptanmıştır. 28 günlük muhafaza süresince PAS gruplarında koliform bakteri türü tespit edilememiştir. İçecek gruplarında sadece

kontrol (K) grubunda 1. ve 7. günlerde maya-küf izolasyonu yapılmış olup, 1. günde  $3,90 \pm 0,0 \log_{10}$  kob/mL ve 7. günde ise  $6,76 \pm 0,0 \log_{10}$  kob/mL düzeyinde etken tespiti gerçekleşmiştir. Muhafazanın son gününde en düşük ve en yüksek maya-küf miktarlarına sırasıyla B ( $7,17 \log_{10}$  kob/mL) ve K grubunun ( $8,07 \log_{10}$  kob/mL) sahip olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Günler arası maya-küf miktarı değişimleri bakımından ise sadece E grubunda muhafazanın tamamında bir artış olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

BC30 eklenen PAS içecek gruplarında (B, C, D ve E), muhafazanın ilk gününde en düşük ve en yüksek BC30 sayısına sırasıyla D ( $7,09 \log_{10}$  kob/mL) ve B grubunda ( $7,83 \log_{10}$  kob/mL) ortaya çıktığı saptanmıştır. B grubundaki BC30 sayısı istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da muhafaza boyunca göreceli olarak azalmıştır. 14. güne gelindiğinde C, D ve E gruplarındaki BC30 miktarı anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0,05$ ). Son analiz gününde E grubunda bu sayı  $5,97 \log_{10}$  kob/mL düzeyine düşerek gruplar arasında en düşük BC30 sayısına sahip olan grup olmuştur.

Muhafazanın başlangıcında antosiyanin içeren PAS içeceklerinin (A, D ve E) DPPH-radikal süpürme aktivitelerinin (%RSA) diğer gruplara göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. İçeceklerin pH değerlerinin B ve C grubu haricindeki diğer gruplarda muhafazanın son günlerine doğru bir azalma gösterdiği saptanmıştır. İçeceklerin titrasyon asitliği değerleri de pH ile paralel bir eğilim göstermiş ve muhafaza süresinin ilerlemesine bağlı olarak asitlikte artış meydana gelmiştir. İçeceklerin vizkosite değerleri birbirlerine benzerlik göstermiştir.

PAS içeceklerinde meydana gelen bu fiziko-kimyasal değişiklikler panelistlerin duyuusal değerlendirmesini de etkilemiştir. Panelistlerin içeceklere verdikleri puanlar incelendiğinde, muhafazanın ilk gününde panelistler içecekler için oldukça iyi değerlendirmelerde bulunurken 21. gündeki puanlar ilk güne kıyasla düşme eğilimi göstermiştir. İçeceklerde meydana gelen fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik değişimler nedeniyle içeceklerin 28. gün duyuusal analizleri yapılmamıştır.

Güncel literatür bilgileri, yapısında kara mürver meyvesinin özütlerini ve enkapsüle edilmiş antosiyaninler, probiyotik ve prebiyotik karışımları barındıran

fonksiyonel bir peynir altı suyu ieeği üretildiğine ve niteliklerinin incelendiğine dair bir araştırma olmadığını söylemektedir. Çalışma başta bu yönüyle özgünlük taşıyamaktadır. Enkapsüle antosiyaninler, BC30 ve inülin ile zenginleştirilerek elde edilen PAS içecekleri üzerinde gerçekleştirilen analizler, geliştirilen ieeğin fonksiyonel özellik taşıyabileceğine dair umut verici sonuçlar ortaya koymuştur. Yapısında ihtiva ettiği kıymetli besin bileşenleriyle birlikte özellikle ürünün iyi bir antioksidan aktivite sergilemesi ve probiyotik canlılığının arzu edilen seviyelerde olması geliştirilen ieeğin sağlık üzerinde olumlu etkilerinin olabileceğine dair kanaat oluşturmaktadır. Yine duyusal analiz sonuçlarından elde edilen veriler ürünün bireyler tarafından rahatlıkla tketelebileceğini göstermektedir. Bunun yanında çalışmanın hedeflerinden biri olan ürünün endüstriyel alanda yer bulabilmesi için daha standardize ve kapalı sistem üretim koşullarına sahip tesisler ile ortak bir şekilde araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin yürütülmesi daha optimal sonuçların elde edilmesine katkıda bulunacaktır. Bu çalışmadan elde edilen ve sunulan veriler, ürünün muhtemel sağlık etkilerinin net olarak ortaya koyulabilmesi için gerek bu çalışmadaki mevcut araştırmacılar gerekse diğer bilim insanları için büyük bir potansiyel taşıyamaktadır. Bu amaçla, mevcut veriler işığında gerçekleştirilecek olan girişimsel nitelikteki klinik araştırmalar, ortaya koyulan fonksiyonel nitelikli bu ieeğin gıda endüstrisinde daha kolay yer almasını sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

**AbdulAlim TS, Zayan AF, Campelo PH, Bakry AM (2018).** Development of new functional fermented product: Mulberry-whey beverage. *J Nutr Food Technol*, **1(3)**, 64-69.

**Abhari K, Shekarforous SS, Hosseinzadeh S, Nazifi S, Sajedianfard J, Eskandari MH (2016).** The effects of orally administered *Bacillus coagulans* and inulin on prevention and progression of rheumatoid arthritis in rats. *Food Nutr Res*, **60(1)**, 1-9

**Agustí M (1988).** *Llibre dels secrets de agricultura, casa rústica y pastoril*. en la estampa de Esteue Liberôs.

**Ahmed T, Sabuz AA, Mohaldar A, Fardows HS, Inbaraj BS, Sharma M, Sridhar K (2023).** Development of novel whey-mango based mixed beverage: effect of storage on physicochemical, microbiological, and sensory analysis. *Foods*, **12(2)**, 237.

**Ali A, Elreffaei W, Elkarmany A, Elsheek F (2015).** Quality of guava whey beverage fortified with *Moringa oleifera* leaves extract. *Life Science Journal*, **12(4)**, 113-122.

**Al-Jaber NA, Awaad AS, Moses JE (2011).** Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *Journal of Saudi Chemical Society*, **15(4)**, 293-307.

**Allen GM, Bond MD, Main MB (2002).** 50 Common native plants important in Florida's ethnobotanical history. Circ. 1439, University of Florida IFAS Extension.

**Alrumaihi F, Almatroudi A, Allemailem KS, Rahmani AH, Khan A, Khan M (2020).** Therapeutic Effect of *Bilsaan, Sambucus nigra* Stem Exudate, on the OVA-Induced Allergic Asthma in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2020**, 3620192.

**Alvarez-Suarez JM, Cuadrado C, Redondo IB, Giampieri F, González-Paramás AM, Santos-Buelga C (2021).** Novel approaches in anthocyanin research-Plant fortification and bioavailability issues. *Trends in Food Science & Technology*, **117**, 92-105.

**Amine KM, Champagne CP, Salmieri S, Britten M, St-Gelais D, Fustier P, Lacroix M (2014).** Effect of palmitoylated alginate microencapsulation on viability of *Bifidobacterium longum* during freeze-drying. *LWT-Food Science and Technology*, **56(1)**, 111-117.

**Amorati R, Valgimigli L (2018).** Methods to measure the antioxidant activity of phytochemicals and plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66(13)**, 3324-3329.

**Andersen OM, Markham KR (Eds.) (2005).** *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC press

**AOAC (2000).** Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 17th edition. AOAC, Washington DC.

**AOAC (2005).** Association of official analytical chemist, official methods of analysis, 18th edn. AOAC International, Gaithersburg.

**AOAC (2019).** Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 21st Edition. Association Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA.

**Armutçu C, Esmeray E (2019).** Mikroplastikler, Çevre-İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri ve Analiz Yöntemleri. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **8(1)**, 839-868.

**Ashwini A, Ramya HN, Ramkumar C, Reddy KR, Kulkarni RV, Abinaya V, Raghu AV (2019).** Reactive mechanism and the applications of bioactive prebiotics for human health. *Journal of Microbiological Methods*, **159**, 128-137.

**Aşan Özüsağlam M (2010).** Importance of *Bacillus coagulans* Bacterium as Probiotic in Animal Nutrition. *Süleyman Demirel Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **5**, 50-57.

**Atallah AA, Gemiel DG (2020).** Preparation of New Carbonated Beverages Based on Hydrolyzed Whey by Fruit and Some Herbs. *Am. J. Food Sci. Technol*, **8**, 49-55.

**Atkinson MD, Atkinson E (2002).** *Sambucus nigra* L. *Journal of Ecology*, **90(5)**, 895-923.

**Awuah GB, Ramaswamy HS, Economides A (2007).** Thermal processing and quality: principles and overview. *Chem. Eng. Process. Process Intensif*, **46(6)**, 584-602.

**Baeza R, Chirife J (2021).** Anthocyanin content and storage stability of spray/freeze drying microencapsulated anthocyanins from berries: a review. *International Journal of Food Engineering*, **17(12)**, 927-944.

**Baeza R, Sánchez V, Salierno G, Molinari F, López P, Chirife J (2021).** Storage stability of anthocyanins in freeze-dried elderberry pulp using low proportions of encapsulating agents. *Food Science and Technology International*, **27(2)**, 135-144.

**Bakowska-Barczak A (2005).** Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants—A review. *Polish journal of Food and Nutrition Sciences*, **14**, 55.

**Bakowska-Barczak AM, Kolodziejczyk PP (2011).** Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Ind. Crops Prod.*, **34**, 1301-1309.

**Benson KF, Redman KA, Carter SG, Keller D, Farmer S, Endres JR, Jensen GS (2012).** Probiotic metabolites from *Bacillus coagulans* GanedenBC30™ support maturation of antigen-presenting cells in vitro. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **18(16)**, 1875.

**Bigliardi B, Galati F (2013).** Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, **31(2)**, 118-129.

**Bitsch R, Netzel M, Sonntag S, Strass G, Frank T, Bitsch I (2004).** Urinary excretion of cyanidin glucosides and glucuronides in healthy humans after elderberry juice ingestion. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2004(5)**, 343.

**Braga ARC, Mesquita LMdS, Martins PLG, Habu S, de Rosso VV (2018a).** Lactobacillus fermentation of jussara pulp leads to the enzymatic conversion of anthocyanins increasing antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, **69**, 162-170.

**Braga ARC, Murador DC, de Souza Mesquita LM, de Rosso VV (2018b).** Bioavailability of anthocyanins: Gaps in knowledge, challenges and future research. *Journal of Food Composition and Analysis*, **68**, 31-40.

**Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, **28(1)**, 25-30.

**Brønnum-Hansen K, Hansen SH (1983).** High-performance liquid chromatographic separation of *Sambucus nigra* L. *Journal of Chromatography A*, **262**, 385–392.

**Bryła A, Lewandowicz G, Juzwa W (2015).** Encapsulation of elderberry extract into phospholipid nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, **167**, 189-195.

**Buitimea-Cantúa NE, Gutiérrez-Uribe JA, Serna-Saldívar SO (2018).** Phenolic–protein interactions: Effects on food properties and health benefits. *Journal of Medicinal Food*, **21(2)**, 188–198.

**Campos DCDS, Neves LTBC, Flach A, Costa LAMA, Sousa BOD (2017).** Post-Acidification And Evaluation Of Anthocyanins Stability And Antioxidan Activity In Açai Fermented Milk And Yogurts (Euterpe Oleracea Mart.). *Revista Brasileira De Fruticultura*, **39**, E-871.

**Cao J, Yu Z, Zhang Q, Yu L, Zhao J, Zhang H, Zhai Q (2022).** Effects of *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 as an adjunct starter culture on the production of yogurt. *Food Research International*, **160**, 111398.

**Carbone F, Preuss A, De Vos RC, D'amico E, Perrotta G, Bovy AG, Rosati C (2009).** Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits. *Plant, Cell & Environment*, **32(8)**, 1117-1131.

**Casati CB, Baeza R, Sánchez V (2019).** Physicochemical properties and bioactive compounds content in encapsulated freeze-dried powders obtained from blueberry, elderberry, blackcurrant and maqui berry. *Journal of Berry Research*, **9(3)**, 431-447.

**Chamblee TS, Weikel RR, Nolen SA, Liotta CL, Eckert CA (2004).** Reversible in situ acid formation for  $\beta$ -pinene hydrolysis using CO<sub>2</sub> expanded liquid and hot water. *Green Chemistry*, **6(8)**, 382-386.

**Charlebois D, Byers PL, Finn CE, Thomas AL (2010).** Elderberry: Botany, Horticulture, Potential. *Horticultural Reviews*, **37**, 213-280.

**Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, **34**, 540-560.

**Cheng J, Liu J-H, Prasanna G, Jing P (2017).** Spectrofluorimetric and molecular docking studies on the interaction of cyanidin-3-O-glucoside with whey protein,  $\beta$ -lactoglobulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, **105**, 965-972.

**Cheng X, Zhu J, Chen Z, Wu Z, Zhang F, Wu C, Fan G (2023).** Color stability and degradation kinetics of anthocyanins in mulberry stirred yoghurt fermented by different starter cultures. *Food Science and Biotechnology*, **32**, 1351-1359.

**Chung C, Rojanasasithara T, Mutilangi W, McClements DJ (2015).** Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. *Food Research International*, **76**, 761-768.

**Colantonio AG, Werner SL, Brown M (2020).** The effects of prebiotics and substances with prebiotic properties on metabolic and inflammatory biomarkers in individuals with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, **120(4)**, 587-607.

**Cooper EL, Yamaguchi N (Eds.) (2013).** *Complementary and alternative approaches to biomedicine* (Vol. 546). Springer Science & Business Media.

**Costica N, Stratu A, Boz I, Gille E (2019).** Characteristics of elderberry (*Sambucus nigra* L.) fruit. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, **84(1)**, 115-122.

**Cristoni A, Magistretti MJ (1987).** Antiulcer and healing activity of *Vaccinium padifolium* anthocyanosides. *Farmaco. Ed. Prat.*, **42**, 29-43.

**Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.*, **26**, 1001-1043.

**Ćujić N, Šavikin K, Janković T, Pljevljakušić D, Zdunić G, Ibrić S (2016).** Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, **194**, 135-142.

**Da Rosa JR, Nunes GL, Motta MH, Fortes JP, Weis GCC, Hecktheuer LHR, da Rosa CS (2019).** Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, **89**, 742-748.

**De Clerck E, Rodriguez-Diaz M, Forsyth G, Lebbe L, Logan NA, DeVos P (2004).** Polyphasic characterization of *Bacillus coagulans* strains, illustrating heterogeneity within this species, and emended description of the species. *Systematic and Applied Microbiology*, **27(1)**, 50-60.

**De Jesus ALT, Cristianini M, Dos Santos NM, Júnior MRM (2020).** Effects of high hydrostatic pressure on the microbial inactivation and extraction of bioactive compounds from açai (*Euterpe oleracea* Martius) pulp. *Food Research International*, **130**, 108856.

**De Pascual-Teresa S, Sanchez-Ballesta MT (2007).** Anthocyanins: From plant to health. *Phytochem. Rev.*, **7**, 281-299.

**DeFuria J, Bennett G, Strissel KJ, Perfield JW, II Milbury PE, Greenberg AS, Obin MS (2009).** Dietary Blueberry Attenuates Whole-Body Insulin Resistance in High Fat-Fed Mice by Reducing Adipocyte Death and Its Inflammatory Sequelae. *The Journal of Nutrition*, **139(8)**, 1510-1516.

**Den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM (2013).** The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, **54(9)**, 2325-2340.

**Deng W, Li X, Ren G, Bu Q, Ruan Y, Feng Y, Li B (2023).** Stability of Purple Corn Anthocyanin Encapsulated by Maltodextrin, and Its Combinations with Gum Arabic and Whey Protein Isolate. *Foods*, **12(12)**, 2393.

**Desai KGH, Jin Park H (2005).** Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Technol.*, **23**, 1361-1394.

**Díaz-Reinoso B, Moure A, Domínguez H, Parajó JC (2006).** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(7)**, 2441-2469.

**Dinçoğlu AH, Ardiç M (2012).** Peynir altı suyunun beslenmemizdeki önemi ve kullanım olanakları. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1(1)**, 54-60.

**Dinçoğlu AH, Rugji J (2021).** Use of rose oil in probiotic fermented whey as a functional food. *Journal of Food Science and Technology*, **58**, 2705-2713.

**Dinkova R, Heffels P, Shikov V, Weber F, Schieber A, Mihalev K (2014).** Effect of enzyme-assisted extraction on the chilled storage stability of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) anthocyanins in skin extracts and freshly pressed juices. *Food Research International*, **65**, 35-41.

**Diviš P, Pořízka J, Vespalcová M, Matějček A, Kaplan J (2015).** Elemental composition of fruits from different Black elder (*Sambucus nigra* L.) cultivars grown in the Czech Republic. *Journal of Elementology*, **20(3)**, 549-557.

**Djurić M, Carić M, Milanović S, Tekić M, Panić M (2004).** Development of whey-based beverages. *Eur. Food Res. Technol.*, **219**, 321-328.

**Domínguez R, Zhang L, Rocchetti G, Lucini L, Pateiro M, Munekata PES, Lorenzo José M (2020).** Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. *Food Chem.*, **330**, 127266.

**Duffy KB, Spangler EL, Devan BD, Guo Z, Bowker JL, Janas AM, Mouton PR (2008).** A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats. *Neurobiology of Aging*, **29(11)**, 1680-1689.

**Durand L, Morissette F, Lamoureux G (1981).** *Plantes sauvages comestibles*. Le Groupe Fleurbec. Saint-Cuthbert, Quebec.

**Ehsannia S, Sanjabi MR (2016).** Quality characterization of processed cheese inoculated by *Bacillus coagulans* during cold storage: compositional and sensorial attributes and probiotic microorganism viability. *J. Food Process. Preserv.*, **40**, 667-674.

**Enache IM, Vasile AM, Enachi E, Barbu V, Stănciuc N, Vizireanu C (2020).** Co-microencapsulation of anthocyanins from cornelian cherry fruits and lactic acid bacteria in biopolymeric matrices by freeze-drying: Evidences on functional properties and applications in food. *Polymers*, **12(4)**, 906.

**Endres JR, Clewell A, Jade KA, Farber T, Hauswirth J, Schauss AG (2009).** Safety assessment of a proprietary preparation of a novel Probiotic, *Bacillus coagulans*, as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, **47(6)**, 1231-1238.

**Endres JR, Qureshi I, Farber T, Hauswirth J, Hirka G, Pasics I, Schauss AG (2011).** One-year chronic oral toxicity with combined reproduction toxicity study of a novel probiotic, *Bacillus coagulans*, as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, **49(5)**, 1174-1182.

**Fang Z, Bhandari B (2012).** Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Res. Int.*, **48**, 478-483.

**FAO (2022).** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Erişim adresi: <https://www.org/faostat/en/#data/QCL> . Erişim tarihi: 03/08/2022.

**Faria A, Pestana D, Azevedo J, Martel F, de Freitas V, Azevedo I, Mateus N, Calhau C (2009).** Absorption of anthocyanins through intestinal epithelial cells-putative involvement of GLUT2. *Mol. Nutr. Food Res.*, **53**, 1430-1437.

**FDA (2016).** Notice to US Food and Drug Administration that *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 is Generally Recognized as Safe for use in Non-exempt Term Infant Formula Erişim Adresi: <https://www.fda.gov/files/food/published/GRAS-Notice-000660---Bacillus-coagulans-GBI-30--6086.pdf> (Erişim Tarihi: 15.07.2023)

**Fernald ML (1950).** *Gray's manual of botany*. 8th Edition (Centennial), New York: American Book Company.

**Fernandes A, Rocha MAA, Santos LM, Brás J, Oliveira J, Mateus N, de Freitas V (2018).** Blackberry anthocyanins: b-cyclodextrin fortification for thermal and gastrointestinal stabilization. *Food Chem.*, **245**, 426–431.

**Fernandez-Lopez JA, Angosto J, Gimenez P, Leon G (2013).** Thermal stability of selected natural red extracts used as food colorants. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **68**, 11-17.

**Ferreira SS, Silva AM, Nunes FM (2022).** *Sambucus nigra* L. fruits and flowers: Chemical composition and related bioactivities. *Food Reviews International*, **38(6)**, 1237-1265.

**Flores FP, Singh RK, Kerr WL, Pegg RB, Kong F (2014).** Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during *in vitro* digestion. *Food Chem.*, **153**, 272-278.

**Fonseca CR, Bordin K, Fernandes AM, Rodrigues CEDC, Corassin CH, Cruz AG, Oliveira CAFD (2013).** Storage of refrigerated raw goat milk affecting the quality of whole milk powder. *Journal of Dairy Science*, **96(7)**, 4716-4724.

**Foster N, Mammucari R, Dehghani F, Barrett A, Bezanehtak K, Coen E, Tandy A (2003).** Processing pharmaceutical compounds using dense gas technology. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **42(25)**, 6476-6493.

**Frank K, Köhler K, Schuchmann HP (2012).** Stability of anthocyanins in high pressure homogenisation. *Food Chem.*, **130**, 716-719.

**Gasparini GB, Amorim FR, de Souza Correa S, Bruzaroski SR, Fagnani R, de Souza CH, de Santana EH (2020).** Psychrotrophs in raw milk: effect on texture, proteolysis index, and sensory evaluation of smoked provolone cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **100(8)**, 3291-3296.

**Gassem MA, Frank JF (1991).** Physical properties of yoghurt made from milk tread with proteolytic enzymes. *Journal of Dairy Science*, **74**, 1503-1511.

**Ge Y, Li Y, Bai Y, Yuan C, Wu C, Hu Y (2020).** Intelligent gelatin/oxidized chitin nanocrystals nanocomposite films containing black rice bran anthocyanins for fish freshness monitorings. *International Journal of Biological Macromolecules*, **155**, 1296-1306.

**Ghafoor K, Park J, Choi YH (2010).** Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **11(3)**, 485-490.

**Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C (1998).** Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 361–367.

**Gibson GR, Roberfroid MB (1995).** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.*, **125**, 1401-12.

**Giusti M, Wrolstad RE (2001).** Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1), F1-2.

**Goleroudbary MG, Ghoreishi SM (2016).** Response surface optimization of Safranal and Crocin extraction from *Crocus sativus* L. via supercritical fluid technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, **108**, 136-144.

**Grime JP, Hodgson JG, Hunt R (2014).** *Comparative plant ecology: a functional approach to common British species*. Springer.

**Guimaraes JT, Silva EK, Ranadheera CS, Moraes J, Raices RS, Silva MC, Cruz AG (2019).** Effect of high-intensity ultrasound on the nutritional profile and volatile compounds of a prebiotic soursop whey beverage. *Ultrasonics Sonochemistry*, **55**, 157-164.

**Gürsel A, Şenel E, Yaman Ş (2004).** Yoğurtta maya ve küf gelişimine karşı biyokoruyucu kültür kullanımı. *Gıda*, **29**(4).

**Ha HK, Jeon NE, Kim JW, Han KS, Yun SS, Lee MR, Lee WJ (2016).** Physicochemical characterization and potential prebiotic effect of whey protein isolate/inulin nano complex. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, **36**(2), 267.

**Hanková M, Čížková H (2020).** Sensory active substances causing off-odor in liquid whey during storage. *Slovak Journal of Food Sciences*, **14**.

**Harrigan WF (1998).** *Laboratory methods in food microbiology*. Gulf professional publishing.

**Honda H, Hoyles L, Gibson GR, Farmer S (2011).** Impact of GanedenBC30 (*Bacillus coagulans* GBI-30, 6086) on population dynamics of the human gut microbiota in a continuous culture fermentation system. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, **6**(1), 65-72.

**Hong SJ, Garcia CV, Park SJ, Shin GH, Kim JT (2019).** Retardation of Curcumin Degradation under Various Storage Conditions via Turmeric Extract-Loaded Nanoemulsion System. *LWT Food Sci. Technol.*, **100**, 175–182.

**Huh S, Lee J, Jung E, Kim SC, Kang JI, Lee J, Park D (2009).** A cell-based system for screening hair growth-promoting agents. *Archives of Dermatological Research*, **301**(5), 381-385.

**ICMSF (1982).** International Commission of Microbiological Specifications for foods. Microorganism in foods. Their significance and methods of enumeration.(2nd ed). University of Toronto Pres.

**Imenšek N, Ivančič A, Kraner Šumenjak T, Islamčević Rasboršek M, Kristl J (2021).** The effect of maturation on chemical composition and harvest of fruits of diverse elderberry interspecific hybrids. *Eur. J. Hort. Sci.*, **86**(3), 223-231.

**Islam MZ, Tabassum S, Harun-ur-Rashid M, Vegarud GE, Alam MS, Islam MA (2021).** Development of probiotic beverage using whey and pineapple (*Ananas comosus*) juice: Sensory and physico-chemical properties and probiotic survivability during in-vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Agriculture and Food Research*, **4**, 100144.

**Ismail AE, Abdelgader MO, Ali AA (2011).** Microbial and chemical evaluation of whey-based mango beverage. *Advance Journal of Food Science and Technology*, **3(4)**, 250-253.

**ISO (2016).** Sensory analysis—Methodology—General guidance for establishing a sensory profile. ISO standard 13299:2016. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.

**ISO 21527- 2 (2008).** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95., International Organization §.

**ISO 4833:2003(E) (2003).** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Colony-count technique at 30 °C. 3, 1-9.

**ISO BS (2006).** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — technique. Strategy, 3. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/38282.html>

**Jaakola L (2013).** New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science*, **18(9)**, 477-483.

**Jain S, Gupta R, Jain S (2013).** Development of low cost nutritional beverage from whey. *J Environ Sci Toxicol Food Technol*, **5**, 73-88.

**Jayaprakasam B, Vareed SK, Olson KL, Nair MG (2005).** Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 28-31.

**Jensen GS, Benson KF, Carter SG, Endres JR (2010).** GanedenBC 30™ cell wall and metabolites: anti-inflammatory and immune modulating effects in vitro. *BMC Immunology*, **11**, 1-14.

**Jiménez-Aguilar DM, Ortega-Regules AE, Lozada-Ramírez JD, Pérez-Pérez MCI, Vernon-Carter EJ, Welti-Chanes J (2011).** Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *J. Food Compos. Anal.*, **24**, 889-894.

**Jimenez-Garcia SN, Guevara-Gonzalez RG, Miranda-Lopez R, Feregrino-Perez AA, Torres-Pacheco I, Vazquez-Cruz MA (2013).** Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. *Food Research International*, **54(1)**, 1195-1207.

**Jing P, Giusti MM (2005).** Characterization of anthocyanin-rich waste from purple corn cobs (*Zea mays* L.) and its application to color milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 8775-8781.

**Kaack K, Austed T (1998).** Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52(3)**, 187-198.

**Kaack K, Frette XC, Christensen LP, Landbo AK, Meyer AS (2008).** Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for the preparation of juice. *European Food Research and Technology*, **226**, 843-855.

**Kähkönen M.P, Heinonen M (2003).** Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 628–633.

**Kalman DS, Schwartz HI, Alvarez P, Feldman S, Pezzullo JC, Krieger DR (2009).** A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled parallel-group dual site trial to evaluate the effects of a *Bacillus coagulans*-based product on functional intestinal gas symptoms. *BMC Gastroenterology*, **9**, 1-7.

**Kalt W (2019).** Anthocyanins and Their C6-C3-C6 Metabolites in Humans and Animals. *Molecules*, **24(22)**, 4024.

**Kalt W, McDonald JE, Vinqvist-Tymchuk MR, Liub Y, Fillmorea SAE (2017).** Human anthocyanin bioavailability: Effect of intake duration and dosing. *Food and Function*, **8**, 4563–4569.

**Kamat SV, Beckman EJ, Russell AJ (1995).** Enzyme activity in supercritical fluids. *Critical Reviews in Biotechnology*, **15(1)**, 41-71.

**Kamonpatana K, Failla ML, Kumar PS, Giusti MM (2014).** Anthocyanin structure determines susceptibility to microbial degradation and bioavailability to the buccal mucosa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62(29)**, 6903–6910.

**Kanca N, Altınay C, Albayrak Delialioğlu R (2023).** Farklı Oranlarda Peyniraltı Suyu ve Süt Bazlı Fermente İçeceklerin Bazı Özellikleri. *Gıda*, **48(1)**, 38-49.

**Kar A, Mahato DK, Patel AS, Bal LM (2019).** The Encapsulation Efficiency and Physicochemical Characteristics of Anthocyanin from Black Carrot (*Daucus carota* Ssp. *Sativus*) as Affected by Encapsulating Materials. *Curr. Agric. Res. J.*, **7(1)**, 26–36.

**Kareb O, Aider M (2019).** Whey and its derivatives for probiotics, prebiotics, synbiotics, and functional foods: a critical review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **11(2)**, 348-369.

**Karimi R, Azizi MH, Ghasemlou M, Vaziri M (2015).** Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, **119**, 85-100.

- Karri SK, Majeed M, Natarajan S, Sivakumar A, Ali F, Pande A, Majeed S (2016).** Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 and its effect on gastrointestinal motility in wistar rats. *Int. J. Pharm. Biol. Sci*, **7**, 311-316.
- Karthik P, Anandharamakrishnan C (2013).** Microencapsulation of Docosahexaenoic Acid by Spray-Freeze-Drying Method and Comparison of Its Stability with Spray-Drying and Freeze-Drying Methods. *Food Bioprocess. Technol.*, **6**, 2780-2790.
- Katsube N, Iwashita K, Tsushuda T, Yamaki K, Kobori M (2003).** Induction of cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 68-75.
- Kesenkaş H, Kınık Ö, Seçkin K, Günc Ergönül P, Akan E (2018).** Keçi sütünden üretilen sinbiyotik beyaz peynirde *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium longum* ve *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* sayılarının değiştirilmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **53**, 75-81.
- Knudsen BF, Kaack K (2015).** A review of human health and disease claims for elderberry (*Sambucus nigra*) fruit. *Acta Horticulturae*, **1061**, 121-134.
- Ko WG (2002).** Effects of Luteolin on The İnhibition of Proliferation And İnduction of Apoptosis in Human Myeloid Leukaemia Cells. *Phytother Res.*, **16(3)**, 295-298.
- Kobus-Cisowska J, Szymanowska D, Maciejewska P, Szczepaniak O, Kmiecik D, Gramza-Michalowska A, Cielecka-Piontek J (2019).** Enriching novel dark chocolate with *Bacillus coagulans* as a way to provide beneficial nutrients. *Food & Function*, **10(2)**, 997-1006.
- Konuray G, Erginkaya Z (2018).** Potential Use of *Bacillus coagulans* in the Food Industry. *Foods*, **7(6)**, 92.
- Koupantsis T, Pavlidou E, Paraskevopoulou A (2014).** Flavour encapsulation in milk proteins–CMC coacervate-type complexes. *Food Hydrocolloids*, **37**, 134-142.
- Kuhnau J (1976).** Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World Review of Nutrition And Dietetics*, **24**, 117-191
- Küçükçetin A, Göçer EMC, Ergin F, Arslan AA (2016).** Farklı inkübasyon sıcaklığı ile inkübasyon sonlandırma pH'sının probiyotik yoğurdun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, **14**, 341-350.
- Kytridis VP, Manetas Y (2006).** Mesophyll versus epidermal anthocyanins as potential in vivo antioxidants: evidence linking the putative antioxidant role to the proximity of the oxy-radical source. *J. Exp. Bot.*, **57**, 2203-2210.
- Lamer-Zarawska E, Oszmiański J (1994).** New investigations of flavonoids bioactivity. *Wiad. Ziel.*, **3**, 11-13.

**Larionov G, Semenov V, Lavrentyev A, Sherne V, Kayukova O, Mardaryeva N, Ivanova R (2020).** Production of mint whey drink at private and collective farms and agricultural holdings. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **604(1)**, 012042.

**Lebeer S, Bron PA, Marco ML, Pijkeren JPV, Motherway MO, Hill C, Pot B, Roos S, Klaenhammer T (2018).** Identification of probiotic effector molecules: Present state and future perspectives. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **49**, 217-223.

**Lee WJ, Lucey JA (2010).** Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **23(9)**, 1127– 1136.

**Lee WJ, Tan CP, Sulaiman R, Smith JRL, Chong GH (2018).** Microencapsulation of red palm oil as an oil-in-water emulsion with supercritical carbon dioxide solution-enhanced dispersion. *Journal of Food Engineering*, **222**, 100-109.

**Lekka M, Laidler P, Labeledz M, Kulik AJ, Lekki J, Zajac W, Stachura Z (2006).** Specific detection of glycans on a plasma membrane of living cells with atomic force microscopy. *Chern. Biol.*, **13**, 505-512.

**Li D, Wang P, Luo Y, Zhao M, Chen F (2017).** Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **57(8)**, 1729-1741.

**Liao M, Ma L, Miao S, Hu X, Liao X, Chen F, Ji J (2021).** The in-vitro digestion behaviors of milk proteins acting as wall materials in spray-dried microparticles: Effects on the release of loaded blueberry anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, **115**, 106620

**Lila MA, Burton-Freeman B, Grace M, Kalt W (2016).** Unraveling anthocyanin bioavailability for human health. *Annual Review of Food Science and Technology*, **7(1)**, 375–393.

**Lynch JM, Barbano DM (1999).** Kjeldahl Nitrogen Analysis as a Reference Method for Protein Determination in Dairy Products: *J. AOAC Int.*, **82(6)**, 1389-1398.

**M El-Aidie SA, Hatem HO, Ewis AM, M El-Nimer AM (2020).** Production of Nutraceutical Probiotic Whey-Based Beverage Fortified with Annona squamosal L.(Custard apple) Fruit Annona squamosal. L. *Journal of Food and Dairy Sciences*, **11(6)**, 171-177.

**Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J (2018).** *Fruit phenolics*. CRC press.

**Mahdavi SA, Jafari SM, Assadpoor E, Dehnad D (2016).** Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, **85**, 379-385.

**Mahdavi SA, Jafari SM, Ghorbani M, Assadpoor E (2014).** Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: A review. *Dry Technol.*, **32**, 509-518.

**Mahrous H, El-Kholy WM, Al-Saman MA (2016).** Effects of enrichment with globe artichoke roots and Jerusalem artichoke tubers on nutritional and functional properties of whey beverages. *World J. Dairy Food Sci.*, **11**, 24–36.

**Majeed M, Nagabhushanam K, Natarajan S, Sivakumar A, Eshuis-de Ruiter T, Booij-Veurink J, Ali F (2016).** Evaluation of genetic and phenotypic consistency of *Bacillus coagulans* MTCC 5856: a commercial probiotic strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **32**, 1-12.

**Maran JP, Priya B, Manikandan S (2014).** Modeling and optimization of supercritical fluid extraction of anthocyanin and phenolic compounds from *Syzygium cumini* fruit pulp. *Journal of Food Science and Technology*, **51(9)**, 1938-1946.

**Martin CO, Mott SP (1997).** American beautyberry (*Callicarpa americana*): section 7.5. 8, US Army Corps of Engineers wildlife resources management manual.

**Martineau LC, Couture A, Spoor D, Benhaddou-Andaloussi A, Harris C, Meddah B, Le PM (2006).** Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. *Phytomedicine*, **13(9–10)**, 612-623.

**Martiş GS, Mureşan V, Marc RM, Mureşan CC, Pop CR, Buzgău G, Muste S (2021).** The Physicochemical and Antioxidant Properties of *Sambucus nigra* L. and *Sambucus nigra* Haschberg during Growth Phases: From Buds to Ripening. *Antioxidants*, **10(7)**, 1093.

**Mateus N, Oliveira J, Haettich-Motta M, de Freitas V (2004).** New family of bluish pyranoanthocyanins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2004(5)**, 299.

**McCullough ML, Peterson JJ, Patel R, Jacques PF, Shah R, Dwyer JT (2012).** Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **95(2)**, 454–464.

**Merzlyak MN, Chivkunova OB, Solovchenko AE, Naqvi KR (2008).** Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*, **59(14)**, 3903-3911.

**Meyer D, Bayarri S, Tárrega A, Costell E (2011).** Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, **25(8)**, 1881-1890.

**Miranda JS, Costa BV, de Oliveira IV, de Lima DCN, Martins EMF, Júnior BRDCL, Martins ML (2020).** Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. *LWT*, **126**, 109275.

**Mlynarczyk K, Walkowiak-Tomczak D, Lysiakb GP (2018).** Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. *Journal of Functional Foods*, **40**, 377-390.

**Moerman DE (1998).** *Native American ethnobotany*. Timber Press, Portland, OR.

**Mohanty D, Misra S, Mohapatra S, Sahu PS (2018).** Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. *Food Bioscience*, **26**, 152-160.

**Morelli L, Callegari ML, Patrone V (2018).** Prebiotics, probiotics, and synbiotics: a bifidobacterial view. In *The Bifidobacteria and Related Organisms* (pp. 271-293). Academic Press.

**Moriwaki S, Suzuki K, Muramatsu M, Nomura A, Inoue F, Into T, Niida S (2014).** Delphinidin, one of the major anthocyanidins, prevents bone loss through the inhibition of excessive osteoclastogenesis in osteoporosis model mice. *PLoS One*, **9(5)**, e97177.

**Mota AH, Duarte N, Serra AT, Ferreira A, Bronze MR, Custódio L, Reis CP (2020).** Further evidence of possible therapeutic uses of *Sambucus nigra* L. extracts by the assessment of the in vitro and in vivo anti-inflammatory properties of its PLGA and PCL-based nanoformulations. *Pharmaceutics*, **12(12)**, 1181.

**Mutavski Z, Nastić N, Živković J, Šavikin K, Veberič R, Medič A, Vidović S (2022).** Black Elderberry Press Cake as a Source of Bioactive Ingredients Using Green-Based Extraction Approaches. *Biology*, **11(10)**, 1465.

**Naik B, Kohli D, Walter N, Gupta AK, Mishra S, Khan JM, Kumar V (2023).** Whey-carrot based functional beverage: Development and storage study. *Journal of King Saud University-Science*, **35**, 102775.

**Nayak CA, Rastogi NK (2010).** Effect of selected additives on microencapsulation of anthocyanin by spray drying. *Dry Technol.*, **28**, 1396-1404.

**Neekhra S, Awasthi H, Singh DP (2021).** Beneficial effects of *Sambucus nigra* in chronic stress-induced neurobehavioral and biochemical perturbation in rodents. *Pharmacognosy Journal*, **13(1)**.

**Norton T, Sun DW (2008).** Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, **1(1)**, 2-34.

**Nyangale EP, Farmer S, Keller D, Chernoff D, Gibson GR (2014).** Effect of prebiotics on the fecal microbiota of elderly volunteers after dietary supplementation of *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086. *Anaerobe*, **30**, 75-81.

**Olaimat AN, Holley RA (2012).** Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiol*, **32(1)**, 1-19.

**Oliveira AS, Niro CM, Bresolin JD, Soares VF, Ferreira MD, Sivieri K, Azeredo HM (2021).** Dehydrated strawberries for probiotic delivery: Influence of dehydration and probiotic incorporation methods. *LWT*, **144**, 111105.

**Oliveira DF, Granato D, Barana AC (2018).** Development and optimization of a mixed beverage made of whey and water-soluble soybean extract flavored with

chocolate using a simplex-centroid design. *Food Science and Technology*, **60**, 413-420.

**Oliveira GA, Guimarães JT, Ramos GLP, Esmerino EA, Pimentel TC, Neto RP, Cruz AG (2022)**. Benefits of thermosonication in orange juice whey drink processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **75**, 102876.

**Oliveira PS, Gazal M, Flores NP, Zimmer AR, Chaves VC, Reginatto FH, Lencina CL (2017)**. Vaccinium virgatum fruit extract as an important adjuvant in biochemical and behavioral alterations observed in animal model of metabolic syndrome. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **88**, 939-947.

**Ongkowijoyo P, Luna-Vital DA, de Mejia EG (2018)**. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. *Food Chemistry*, **250**, 113-126.

**Osbaldeston TA, Wood RPA (2000)**. *Dioscorides de materia medica*. Ibis Press, Johannesburg, SA.

**Ova G (2001)**. Koruyucular. Gıda katkı maddeleri. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi*, 128.

**Özcan T, Delikanlı B (2011)**. Gıdaların tekstürel özelliklerinin geliştirilmesinde peynir altı suyu protein katkılarının fonksiyonel etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **25(2)**, 77-88.

**Özer D, Akin S, Özer B (2005)**. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* 5 and *Bifidobacterium bifidum* bb-02 in *Acidophilus-bifidus* yoghurt. *Food Science and Technology International*, **11(1)**, 19-24.

**Palencia-Argel M, Rodríguez-Villamil H, Bernal-Castro C, Díaz-Moreno C, Fuenmayor CA (2022)**. Probiotics in anthocyanin-rich fruit beverages: research and development for novel synbiotic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-17.

**Pasquel A, Meireles MAA, Marques MOM, Petenate AJ (2000)**. Extraction of stevia glycosides with CO<sub>2</sub>+ H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>+ EtOH, and CO<sub>2</sub>+ H<sub>2</sub>O+ EtOH. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **17(3)**, 271-282.

**Patras A, Brunton NP, Donnell C, Tiwari BK (2010)**. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Sci. & Tech.*, **21**, 3-11.

**Peng Y, Yan Y, Wan P, Dong W, Huang K, Ran L, Cao Y (2020)**. Effects of long-term intake of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray on the organism health and gut microbiota in vivo. *Food Research International*, **130**, 108952.

**Petroni K, Trinei M, Fornari M, Calvenzani V, Marinelli A, Micheli L, Tonelli C (2017)**. Dietary cyanidin 3-glucoside from purple corn ameliorates doxorubicin-

induced cardiotoxicity in mice. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **27(5)**, 462-469.

**Purkiewicz A, Pietrzak-Fiećko R (2021)**. Antioxidant properties of fruit and vegetable whey beverages and fruit and vegetable mousses. *Molecules*, **26(11)**, 3126.

**Rajabi H, Ghorbani M, Jafari SM, Mahoonak AS, Rajabzadeh G (2015)**. Retention of Saffron Bioactive Components by Spray Drying Encapsulation Using Maltodextrin, Gum Arabic and Gelatin as Wall Materials. *Food Hydrocolloid*, **51**, 327-337.

**Rather SA, Akhter R, Masoodi FA, Gani A, Wani SM (2017)**. Effect of double alginate microencapsulation on in vitro digestibility and thermal tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCDC201 and *L. casei* NCDC297. *LWT-Food Science and Technology*, **83**, 50-58.

**Reátegui JLP, da Fonseca Machado AP, Barbero GF, Rezende CA, Martínez J (2014)**. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO<sub>2</sub> assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, **94**, 223-233.

**Ren S, Jiménez-Flores R, Giusti MM (2021)**. The interactions between anthocyanin and whey protein: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **20(6)**, 5992-6011.

**Requena T, Monagas M, Pozo-Bayón MA, Martín-Alvarez PJ, Bartolomé B, del Campo R (2010)**. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, **21(7)**, 332-344.

**Reverchon E, Daghero J, Marrone C, Mattea M, Poletto M (1999)**. Supercritical fractional extraction of fennel seed oil and essential oil: experiments and mathematical modeling. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **38(8)**, 3069-3075.

**Rezvankhah A, Emam-Djomeh Z, Askari G (2020)**. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, **38(1-2)**, 235-258.

**Ribeiro AM, Estevinho BN, Rocha F (2019)**. Spray drying encapsulation of elderberry extract and evaluating the release and stability of phenolic compounds in encapsulated powders. *Food and Bioprocess Technology*, **12**, 1381-1394.

**Robert P, Fredes C (2015)**. The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. Trends in foods. *Molecules*, **20(4)**, 5875-5888.

**Robert P, Gorena T, Romero N, Sepulveda E, Chavez J, Saenz C (2010)**. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **45**, 1386-1394.

**Rocha JDCG, Viana KWC, Mendonca AC, Neves NDA, Carvalho AFD, Minim VPR, Stringheta PC (2018).** Protein beverages containing anthocyanins of jaboticaba. *Food Science and Technology*, **39**, 112-119.

**Romano N, Tymczyszyn E, Mobili P, Gomez-Zavaglia A (2016).** Prebiotics as protectants of lactic acid bacteria. *Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. Bioactive Foods in Health Promotion*, 155-163.

**Rosenberg M, Kopelman IJ, Talmon Y (1985).** A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Journal of Food Science*, **50(1)**, 139-144.

**Rubel IA, Pérez EE, Genovese DB, Manrique GD (2014).** In vitro prebiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers at different storage times by *Lactobacillus paracasei*. *Food Research International*, **62**, 59-65.

**Rugji J, Çalışkan Z, Dinçoğlu AH, Özgür M, Erol Z, Özgür EB (2022).** Prebiotic Effect Of D-Allulose and B-Glucan on Whey Beverage with *Bifidobacterium Animalis* and Investigation of Some Health Effects of This Functional Beverage On Rats. *Food Science and Technology*, **42**, E07022.

**Rugji J, Dinçoğlu AH (2022).** Biocontrol of *Listeria monocytogenes* by *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 in a synbiotic white brined cheese: An In Vitro model study. *LWT*, **169**, 113982.

**Salveti E, Orrù L, Capozzi V, Martina A, Lamontanara A, Keller D, Spano G (2016).** Integrate genome-based assessment of safety for probiotic strains: *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 as a case study. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **100**, 4595-4605.

**Samaržija D, Zamberlin Š, Pogačić T (2012).** Psychrotrophic bacteria and their negative effects on milk and dairy products quality. *Mljekarstvo: Časopis Za Unaprjeđenje Proizvodnje I Prerade Mlijeka*, **62(2)**, 77-95.

**Santorum P, Garcia R, Lopez V, Martínez-Suárez JV (2012).** Dairy farm management and production practices associated with the presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and beef. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **2**, 360-371.

**Scheid MMA, Moreno YMF, Junior MRM, Pastore GM (2013).** Effect of prebiotics on the health of the elderly. *Food Research International*, **53(1)**, 426-432.

**Schön C, Mödinger Y, Krüger F, Doebis C, Pischel I, Bonnländer B (2021).** A new high-quality elderberry plant extract exerts antiviral and immunomodulatory effects in vitro and ex vivo. *Food and Agricultural Immunology*, **32(1)**, 650-662.

**Seabra IJ, Braga ME, Batista MT, de Sousa HC (2010).** Fractioned high pressure extraction of anthocyanins from elderberry (*Sambucus nigra* L.) pomace. *Food and Bioprocess Technology*, **3(5)**, 674-683.

**Sekhavitizadeh SS, Aminlari M, Gheisari HR, Shekarforoush SS, Golmakani MT (2019).** Physicochemical and microbiological properties of probiotic kashk containing *Bacillus coagulans*. *JCF*, **14**, 377-387.

**Sezen A, Koçak C (2006).** Fonksiyonel süt ürünleri teknolojisindeki gelişmeler. *Türkiye*, **9**, 24-26.

**Shah NP (2000).** Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.*, **83**, 894-907.

**Sharif N, Khoshnoudi-Nia S, Jafari SM (2020).** Nano/microencapsulation of anthocyanins; A systematic review and meta-analysis. *Food Research International*, **132**, 109077.

**Sharma NC, Bais B, Tak L, Singh J, Singh Y (2021).** Microbial quality evaluation of aloe vera and coconut water based whey beverages prepared from camel and goat milk. *Pharma Innov*, **10**, 137-140.

**Silveira EO, Neto JHL, da Silva LA, Raposo AES, Magnani M, Cardarelli HR (2015).** The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. *LWT – Food Science and Technology*, **62**, 445-451.

**Singh DP, Singh S, Bijalwan V, Kumar V, Khare P, Baboota RK, Bishnoi M (2018).** Co-supplementation of isomalto-oligosaccharides potentiates metabolic health benefits of polyphenol-rich cranberry extract in high fat diet-fed mice via enhanced gut butyrate production. *European Journal of Nutrition*, **57**, 2897-2911.

**Sitanggang AB, Drews A, Kraume M (2016).** Recent advances on prebiotic lactulose production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **32(9)**, 1-10.

**Slozhenkina MI, Gorlov IF, Kryuchkova VV, Mosolova NI, Bochkareva A, Serova OP (2020).** Functional fermented milk whey product: assessment of quality and safety. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **548(8)**, 082030.

**Soares MB, Martinez RC, Pereira EP, Balthazar CF, Cruz AG, Ranadheera CS, Sant’Ana AS (2019).** The resistance of *Bacillus*, *Bifidobacterium*, and *Lactobacillus* strains with claimed probiotic properties in different food matrices exposed to simulated gastrointestinal tract conditions. *Int. Food Res. J.*, **125**, 108542.

**Sobieralska M, Kurek MA (2019).** Beta-glucan as wall material in encapsulation of elderberry (*Sambucus nigra*) extract. *Plant Foods for Human Nutrition*, **74**, 334-341.

**Sousa Sabino LB, Alves Filho EG, Fernandes FAN, de Brito ES, da Silva Júnior IJ (2021).** Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (*Syzygium cumini* L.). *Food and Bioproducts Processing*, **127**, 77-89.

**Souza ACP, Gurak PD, Marczak LDF (2017).** Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. *Food and Bioproducts Processing*, **102**, 186-194.

**Sthavarmath S, Puranik DB (2018).** Development of pomegranate blended whey beverage. *International Journal of Science, Environment and Technology*, **7(3)**, 1040-1046.

**Suharoschi R, Pop OL, Vlaic RA, Muresan CI, Muresan CC, Cozma A, Iuga CA (2019).** Dietary fiber and metabolism. In *Dietary fiber: Properties, recovery, and applications* (pp. 59-77). Academic Press.

**Şen İ, Yüceer YK (2019).** Dane veya Liyofilize Kefir Kültürü Kullanılarak Peyniraltı Suyu İçeceği Üretimi ve Karakterizasyonu. *Akademik Gıda*, **17(3)**, 362-370.

**Tamuçay-Özünlü B, Koçak C (2010).** Farklı inkübasyon sonu asitliğinin ayran kalitesine etkisi. *Gıda*, **35(2)**, 113-119.

**Tamura H, Yamagami A (1994).** Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from Muscat Bailey A grape. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1612-1615.

**Tan C, Selig MJ, Lee MC, Abbaspourrad A (2018).** Polyelectrolyte microcapsules built on CaCO<sub>3</sub> scaffolds for the integration, encapsulation, and controlled release of copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, **246**, 305-312.

**Tanwar TK, Wagh RV, Mehta N, Malav OP, Kour S, Kumar P (2022).** Preparation of Functional Beverage from whey-based Mango Juice. *Pharm. Innov. J.*, **11**, 4710-4716.

**Tao Y, Wang P, Wang J, Wu Y, Han Y, Zhou J (2017).** Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties. *Powder Technology*, **311**, 77-87.

**Tavares L, Norena CPZ (2019).** Encapsulation of ~ Garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray drying. *Food Hydrocolloid*, **89**, 360-369.

**Technavio (2022).** Erişim adresi: <https://www.technavio.com/report/elderberry-market-industry-analysis> . Erişim tarihi: 27/06/2022.

**Thompson F (1969).** *Harris tweed-the story of a Hebridean industry*. David & Charles, Newton Abbot, UK.

**Tian B, Liu M, An W, Yu L, Zhang J, Liu Y, Li J (2020).** Lycium barbarum relieves gut microbiota dysbiosis and improves colonic barrier function in mice following antibiotic perturbation. *Journal of Functional Foods*, **71**, 103973.

**Tomas M, Beekwilder J, Hall RD, Simon CD, Sagdic O, Capanoglu E (2018).** Effect of dietary fiber (inulin) addition on phenolics and in vitro bioaccessibility of tomato sauce. *Food Research International*, **106**, 129-135.

**Tomas M, Rocchetti G, Ghisoni S, Giuberti G, Capanoglu E, Lucini L (2020).** Effect of different soluble dietary fibres on the phenolic profile of blackberry puree subjected to in vitro gastrointestinal digestion and large intestine fermentation. *Food Research International*, **130**, 108954.

**Tripathi MK, Giri SK (2014).** Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, **9**, 225-241.

**Uhl KR, Fyhrie KJ, Brodt SB, Mitchell AE (2022).** Blue elderberry (*sambucus nigra* ssp. *Cerulea*): a robust and underutilized fruit for value-added products. *ACS Food Sci. Technol.*, **2**, 347-358.

**Ujala R, Bajaj R (2022).** Storage stability of cranberry fortified whey beverage under refrigerated conditions. *The Pharma Innovation Journal SP*, **11(8)**, 694-697.

**Urbano J, da Silva M, Mazzocato M, Tulini F, Favaro-Trindade C (2019).** Probiotic and synbiotic sorbets produced with jussara (*Euterpe edulis*) pulp: Evaluation throughout the storage period and effect of the matrix on probiotics exposed to simulated gastrointestinal fluids. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **11 (1)**, 264-72.

**Uyulaşer V, Başoğlu F (2016).** *Temel gıda analizleri.*, Dora Yayıncılık, Bursa.

**Vallès J, Bonet MÀ, Agelet A (2004).** Ethnobotany of *Sambucus nigra* L. in Catalonia (Iberian Peninsula): The integral exploitation of a natural resource in mountain regions. *Economic Botany*, **58(3)**, 456-469.

**Vargas-Díaz S, Ciro-Velasquez HJ, Sepúlveda-Valencia JU (2023).** Development and characterization of a fermented dairy beverage from permeated and concentrated sweet whey sweetened with tagatose. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, **76(1)**, 10201-10212.

**Veberic R, Jakopic J, Stampar F, Schmitzer V (2009).** European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, **114(2)**, 511-515.

**Vieira AH, Balthazar CF, Guimaraes JT, Rocha RS, Pagani MM, Esmerino EA, Cruz AG (2020).** Advantages of microfiltration processing of goat whey orange juice beverage. *Food Research International*, **132**, 109060.

**Villacrez JL, Carriazo JG, Osorio C (2014).** Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.) aqueous extract by spray drying. *Food Bioprocess Technol.*, **7**, 1445-1456.

**Vlachojannis C, Zimmermann BF, Chrubasik-Hausmann S (2015).** Quantification of anthocyanins in elderberry and chokeberry dietary supplements. *Phytother. Res.*, **29**, 561-565.

**Vulic JJ, Vracar LO, Sumic ZM (2008).** Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit. *Acta Periodica Technologica*, **39**, 85-90.

**Wang M, Zhang Z, Sun H, He S, Liu S, Zhang T, Ma G (2022).** Research progress of anthocyanin prebiotic activity: A review. *Phytomedicine*, **102**, 154145.

**Wang Y, Yang C, Zhang J, Zhang L (2023).** Interaction of preheated whey protein isolate with rose anthocyanin extracts in beverage model system: Influence on color stability, astringency and mechanism. *Food Chemistry*, **412**, 135507.

**Wang Z, Li Y, Chen L, Xin X, Yuan Q (2013).** A study of controlled uptake and release of anthocyanins by oxidized starch microgels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61(24)**, 5880-5887.

**Watanabe T, Yamamoto A, Nagai S, Terabe S (1998).** Analysis of elderberry pigments in commercial food samples by micellar electrokinetic chromatography. *Analytical Sciences*, **14(4)**, 839-844.

**Wiczowski W, Szawara-Nowak D, Romaszko J (2016).** The impact of red cabbage fermentation on bioavailability of anthocyanins and antioxidant capacity of human plasma. *Food Chemistry*, **190**, 730–740.

**Wolniak M (2002).** Antioxidative mechanisms of antocyanidin and their meaning for alive organisms. *Farmacja Polska*, **58**, 931-934.

**Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL (2006).** Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(11)**, 4069-4075.

**Xie N, Geng N, Zhou D, Xu Y, Liu K, Liu Y, Liu J (2019).** Protective effects of anthocyanin against apoptosis and oxidative stress induced by arsenic acid in DF-1 cells. *Molecular Biology Reports*, **46(1)**, 301-308.

**Yamashita C, Chung MMS, dos Santos C, Mayer CRM, Moraes ICF, Branco IG (2017).** Microencapsulation of an Anthocyanin-Rich Blackberry (*Rubus Spp.*) By-Product Extract by Freeze-Drying. *LWT Food Sci. Technol.*, **84**, 256–262.

**Yanes M, Durán L, Costell E (2002).** Rheological and optical properties of commercial chocolate milk beverages. *Journal of Food Engineering*, **51(3)**, 229-234.

**Yao L, Xu J, Zhang L, Liu L, Zhang L (2021).** Nanoencapsulation of anthocyanin by an amphiphilic peptide for stability enhancement. *Food Hydrocolloids*, **118**, 106741.

**Ye JH, Augustin MAJ (2019).** Nano-and microparticles for Delivery of Catechins: Physical and Biological Performance. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **59**, 1563–1579.

**Yerlikaya O, Kımık Ö, Akbulut N (2010).** Peynir altı suyunun fonksiyonel özellikleri ve peyniraltı suyu olarak kullanılarak üretilen yeni nesil süt ürünleri. *Gıda*, **35(4)**, 289-296.

**Youdim KA, Martin A, Joseph JA (2000).** Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, **29(1)**, 51-60.

**Zamora-Ros R, Andres-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, Berenguer T, Jakszyn P, Barricarte A, González CA (2010).** Estimation of dietary sources and flavonoid intake in a Spanish adult population (EPIC-Spain). *Journal of the American Dietetic Association*, **110(3)**, 390-398.

**Zhang J, Zou X, Zhai X, Huang X, Jiang C, Holmes M (2019).** Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. *Food Chemistry*, **272**, 306-312.

**Zhang Q, Cheng Z, Wang Y, Fu L (2020).** Dietary protein-phenolic interactions: Characterization, biochemical/physiological consequences, and potential food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **61(21)**, 1–27.

**Zhao L, Pan F, Mehmood A, Zhang H, Rehman AU, Li J, Wang C (2021).** Improved color stability of anthocyanins in the presence of ascorbic acid with the combination of rosmarinic acid and xanthan gum. *Food Chemistry*, **351**, 129317.

**Zhao L, Temelli F (2017).** Preparation of anthocyanin-loaded liposomes using an improved supercritical carbon dioxide method. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **39**, 119–128.

**Zhao L, Temelli F, Chen L (2017).** Encapsulation of anthocyanin in liposomes using supercritical carbon dioxide: Effects of anthocyanin and sterol concentrations. *Journal of Functional Foods*, **34**, 159-167.

**Zhu F (2018).** Interactions between cell wall polysaccharides and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **58(11)**, 1808-1831.

