

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALIÇ SUYU İLE CO-ENKAPSÜLE EDİLMİŞ *Lactobacillus acidophilus*'un *in vitro* GASTROİNTESTİNAL KOŞULLARDA VE ELMA SUYUNDA STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Fatma Sezer ÖZTÜRK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT

ARALIK 2022

T.C  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALIÇ SUYU İLE CO-ENKAPSÜLE EDİLMİŞ *Lactobacillus acidophilus*'un *in vitro* GASTROİNTESTİNAL KOŞULLARDA VE ELMA SUYUNDA STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Fatma Sezer ÖZTÜRK  
(23616200001)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT

ARALIK 2022



## TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında yardım, öneri, bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgmeden beni her konuda yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT'a,

Tez İzleme Komitesi üyesi, çalışmada kullanılan probiyotik bakteri temininde ve çalışmalarım sırasındaki destekleriyle yanımda olan Sayın Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na,

Tez İzleme Komitesi üyesi, çalışmalarım esnasında fikirleri ve tecrübeleriyle beni destekleyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuğça BİLENLER KOÇ'a,

Çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İhsan KARABULUT'a,

Çalışmalarım esnasında takıldığım her noktada fikir ve tecrübeleri ile yanımda olan, desteğini her daim hissettiğim sevgili abim Sayın Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ'a,

Tez çalışmasının laboratuvar aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Grv. Hüseyin KARAKAYA'ya, Sayın Öğr. Grv. Ülkühan BAĞIŞ'a, Sayın Öğr. Grv. Ali TEKİN'e, Sayın Büşra KAYA'ya ve Sayın Seyithan BİNGÜL'e,

Bugüne kadar bana bir harf olsa dahi öğretmiş, eğitim hayatıma yön vermiş bütün değerli hocalarıma,

Malzeme temininde benden desteğini esirgemeyen sevgili abim Selami SEVİMLİ ve değerli ailesine,

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi tez çalışması süresince de benden her türlü desteklerini esirgemeyen, elimi her zaman tutan, sırtımı korkmadan yasladığım başta annem Leyla ÖZTÜRK, babam İsmail ÖZTÜRK, kardeşlerim Aslı Güner ÖZTÜRK DEMİR ve Recep Bahadır ÖZTÜRK, yeğenim Ayduru Neva DEMİR, abim Murat DEMİR, kuzenim Sebiha GÖRÜCÜ, abim İbrahim GÖRÜCÜ ve kuzenim Gülçin KATIRCI olmak üzere bütün aile üyelerime ve dostlarıma,

Bu çalışmayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu (FDK-2019-1994 nolu proje) ile maddi olarak destekleyen ve olanak sağlayan İnönü Üniversitesi Rektörlüğü'ne,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

## ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum “Alıç Suyu ile Co-Enkapsüle Edilmiş *Lactobacillus acidophilus*'un *in vitro* Gastrointestinal Koşullarda ve Elma Suyunda Stabilitesinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığıın bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Fatma Sezer ÖZTÜRK



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ .....	i
ONUR SÖZÜ .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR .....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER .....</b>	<b>5</b>
2.1 Fonksiyonel Gıdalar.....	5
2.2 Probiyotikler .....	6
2.2.1 Probiyotik canlılığını etkileyen faktörler.....	7
2.2.2 Laktik asit bakterileri.....	9
2.2.1.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	10
2.3 Prebiyotikler .....	11
2.4 Alıç ( <i>Crataegus orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> ) .....	13
2.5 Co-enkapsülasyon.....	16
2.5.1 Gastrointestinal sistemde probiyotiklerin durumu ve co-enkapsülasyonun önemi .....	17
2.5.2 Püskürterek kurutma yöntemi.....	19
2.5.3 Kaplama malzemeleri .....	22
2.5.3.1 Maltodekstrin.....	23
2.5.3.2 İnülin.....	26
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>27</b>
3.1 Materyal.....	27
3.1.1 Bitki ve probiyotik bakteri.....	27
3.1.2 Besiyeri ve dilüsyon sıvıları .....	27
3.1.3 Diğer kimyasallar ve çözeltiler.....	27
3.1.4 Kullanılan alet, donanım ve cihazlar .....	28
3.2 Yöntem .....	28
3.2.1 Alıç meyvesinde yapılan analizler.....	28
3.2.1.1 Pomolojik özellikler .....	28
3.2.1.2 Fizikokimyasal analizler.....	28
3.2.1.2.1 Toplam asitlik .....	29
3.2.1.2.2 pH .....	29
3.2.1.2.3 Suda çözünen kuru madde miktarı .....	29
3.2.1.2.4 Maturasyon indeksi .....	29
3.2.1.2.5 Renk.....	29
3.2.1.2.6 Su aktivitesi .....	30
3.2.1.2.7 Toplam kuru madde içeriği.....	30
3.2.1.2.8 Kül içeriği.....	30
3.2.1.3 Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu.....	30
3.2.1.4 Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi .....	31
3.2.1.5 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	32
3.2.1.5.1 DPPH.....	32
3.2.1.5.2 ABTS .....	33

3.2.1.5.3 FRAP (Ferric reducing power) .....	34
3.2.1.6 HPLC analizleri .....	35
3.2.1.6.1 $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriğinin belirlenmesi.....	35
3.2.1.6.2 Organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesi .....	36
3.2.1.6.3 Fenolik bileşiklerin belirlenmesi .....	36
3.2.2 Alıç suyunun hazırlanması .....	37
3.2.2.1 Alıç suyunda toplam fenolik içeriğin belirlenmesi.....	38
3.2.2.2 Alıç suyunda antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	38
3.2.2.2.1 DPPH.....	38
3.2.2.2.2 ABTS .....	38
3.2.2.2.3 FRAP .....	38
3.2.3 Probiyotik bakteri aktifleştirme .....	38
3.2.4 Probiyotik bakteri kitle üretimi .....	39
3.2.5 Probiyotik içeren izotonik çözeltinin hazırlanması .....	39
3.2.6 Dilüsyon hazırlama ve ekim işlemi .....	40
3.2.7 Kaplama malzemelerinin hazırlanması .....	41
3.2.8 Püskürterek kurutma işlemi ile co-enkapsülasyon .....	41
3.2.9 Enkapsülasyon verimi .....	42
3.2.10 Enkapsülasyon etkinliği.....	43
3.2.11 Enkapsüllerde fiziksel analizler.....	43
3.2.11.1 Yoğunluk .....	43
3.2.11.2 Çözünürlük .....	43
3.2.11.3 Renk.....	44
3.2.11.4 Nem içeriği .....	44
3.2.11.5 Su aktivitesi .....	44
3.2.11.6 Taramalı elektron mikroskobu (Scanning electron microscopy, SEM) .....	44
3.2.11.7 Fourier dönüşümü infrared (FTIR) spektroskopisi.....	44
3.2.11.8 Camsı geçiş sıcaklığı (Glass-transition temperature, Tg).....	45
3.2.12 Enkapsüllerde kimyasal analizler .....	45
3.2.12.1 Enkapsüllerden fenolik bileşik ekstraksiyonu .....	45
3.2.12.2 Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi .....	45
3.2.12.3 Antioksidan aktivitelerin belirlenmesi .....	45
3.2.12.3.1 DPPH.....	45
3.2.12.3.2 ABTS .....	46
3.2.12.3.3 FRAP .....	46
3.2.13 <i>In vitro</i> gastrointestinal koşullarda yapılan analizler.....	46
3.2.14 Elma suyunda stabilitenin belirlenmesi.....	47
3.2.14.1 Elma suyu eldesi.....	47
3.2.14.2 Co-enkapsüle edilmiş <i>L. acidophilus</i> 'un elma suyuna ilavesi ve depolanması.....	48
3.2.15 İstatistiksel analiz .....	52
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>53</b>
4.1 Meyve Analizleri .....	53
4.1.1 Pomolojik özellikler .....	53
4.1.2 Fizikokimyasal özellikler .....	54
4.1.3 Toplam fenolik içerik .....	57
4.1.4 Antioksidan aktivite değerleri .....	58
4.1.4.1 DPPH.....	59
4.1.4.2 ABTS.....	59

4.1.4.3 FRAP .....	60
4.1.5 HPLC analizleri .....	60
4.2 Alıç Suyu Analizleri .....	64
4.2.1 Alıç suyunda bazı fizikokimyasal özellikler .....	64
4.2.2 Alıç suyunda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri .....	64
4.2.3 Alıç suyunun organik asit ve şeker içeriği .....	65
4.3 Enkapsülasyon Verimi .....	66
4.4 Enkapsülasyon Etkinliği .....	67
4.5 Enkapsüllerde Fiziksel Ölçümler .....	71
4.5.1 Yoğunluk .....	71
4.5.2 Çözünürlük .....	71
4.5.3 Renk .....	72
4.5.4 Nem içeriği .....	73
4.5.5 Su aktivitesi .....	73
4.5.6 Enkapsüllerin morfolojisi .....	75
4.5.7 FTIR .....	77
4.5.8 Enkapsüllerin camsı geçiş sıcaklığı .....	80
4.6 Enkapsüllerde Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Aktivite .....	82
4.7 <i>In vitro</i> Gastrointestinal Koşullarda <i>L. acidophilus</i> 'un Canlılığı .....	82
4.8 Elma Suyunda Stabilitenin Belirlenmesi .....	85
4.8.1 <i>L. acidophilus</i> canlılığı .....	85
4.8.1.1 Elma suyunda farklı sıcaklıklarda depolama ile <i>L. acidophilus</i> canlılığındaki değişim .....	85
4.8.1.2 PSF çözeltisinde farklı sıcaklıklarda depolama ile <i>L. acidophilus</i> canlılığındaki değişim .....	88
4.8.2 Depolamada fizikokimyasal ölçümler .....	93
4.8.2.1 pH .....	93
4.8.2.2 Toplam asitlik .....	97
4.8.2.3 Briks .....	102
4.8.2.4 Su aktivitesi .....	105
4.8.2.5 Toplam renk farkı ( $\Delta E$ ) .....	108
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>114</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>118</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>137</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 : Probiyotik olarak yaygın şekilde kullanılan laktik asit bakterileri. ....	9
Çizelge 3.1 : Formülasyonlara göre kaplama malzemesi oranları. ....	41
Çizelge 3.2 : Depolama stabilitesi için kullanılan örneklerin şematik açıklaması....	49
Çizelge 4.1 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> 'in pomolojik özellikleri. ....	54
Çizelge 4.2 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyvesinin fizikokimyasal özellikleri..	55
Çizelge 4.3 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyvesinin renk değerleri. ....	56
Çizelge 4.4 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyve ekstraktlarında bulunan antioksidan aktivite değerleri. ....	58
Çizelge 4.5 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyvesinin fenolik bileşik içeriği (mg/kg KA). ....	61
Çizelge 4.6 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyvesinin $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriği (mg/kg KA). ....	63
Çizelge 4.7 : <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> meyvesinin organik asit ve şeker içeriği (g/100 g KA).....	63
Çizelge 4.8 : Alıç suyunun fizikokimyasal özellikleri. ....	64
Çizelge 4.9 : Alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri. .	65
Çizelge 4.10 : Alıç suyunun organik asit ve şeker içeriği (g/100 g KA). ....	66
Çizelge 4.11 : Formülasyonlara göre elde edilen enkapsülasyon verimi (%). ....	67
Çizelge 4.12 : Kaplama malzemesi olarak maltodekstrin ve inülin kullanımı ile alıç suyu ve <i>L. acidophilus</i> 'un püskürterek kurutulmasından önce ve sonra canlı koloni sayısı ve enkapsülasyon etkinliği (%). ....	70
Çizelge 4.13 : Enkapsüllerde bazı fiziksel ölçümler. ....	74
Çizelge 4.14 : Enkapsüllerde renk değerleri. ....	74
Çizelge 4.15 : Enkapsülde toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri...	82
Çizelge 4.16 : <i>In vitro</i> gastrointestinal koşullarda <i>L. acidophilus</i> canlılığı (log kob/mL). ....	83
Çizelge 4.17 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi. ....	86
Çizelge 4.18 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi. ....	89
Çizelge 4.19 : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı <i>L. acidophilus</i> canlılığına ait varyans analizi sonuçları. ....	92
Çizelge 4.20 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı pH değişimi. ....	93
Çizelge 4.21 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH değişimi. ....	95
Çizelge 4.22 : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı pH'a ait varyans analizi sonuçları.....	96
Çizelge 4.23 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı toplam asitlik değişimi. ....	98
Çizelge 4.24 : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı toplam asitlik değişimi.....	100
Çizelge 4.25 : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı toplam asitliğe ait varyans analizi sonuçları. ....	101

<b>Çizelge 4.26</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı °Bx değişimi. ....	<b>103</b>
<b>Çizelge 4.27</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı °Bx değişimi. ....	<b>104</b>
<b>Çizelge 4.28</b> : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı °Bx'e ait varyans analizi sonuçları. ....	<b>105</b>
<b>Çizelge 4.29</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı $a_w$ değişimi. ....	<b>106</b>
<b>Çizelge 4.30</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı $a_w$ değişimi. ....	<b>107</b>
<b>Çizelge 4.31</b> : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı $a_w$ 'e ait varyans analizi sonuçları. ....	<b>108</b>
<b>Çizelge 4.32</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı $\Delta E$ değişimi. ....	<b>109</b>
<b>Çizelge 4.33</b> : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı $\Delta E$ değişimi. ....	<b>110</b>
<b>Çizelge 4.34</b> : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı $\Delta E$ 'ye ait varyans analizi sonuçları. ....	<b>111</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 : Alıç meyvesinin terapötik özellikleri.....	14
Şekil 2.2 : Alıç meyvesinde bulunan başlıca fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.	15
Şekil 2.3 : Probiyotik bakteri ve alıç suyu co-enkapsülasyonu.....	17
Şekil 2.4 : Co-enkapsüle edilmiş probiyotik ve prebiyotiklerin gastrointestinal sistemdeki durumu.....	19
Şekil 2.5: Enkapsülasyon işleminde maltodekstrinin kullanım nedenleri.....	25
Şekil 3.1 : Alıç ( <i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i> ) meyvesi. ....	27
Şekil 3.2 : Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu. ....	31
Şekil 3.3 : Gallik asit eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği. ....	32
Şekil 3.4 : DPPH yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği. ....	33
Şekil 3.5 : ABTS yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği. ....	34
Şekil 3.6 : FRAP yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği.....	35
Şekil 3.7 : HPLC sistemi ve analiz koşulları. ....	37
Şekil 3.8 : Liyofilize <i>L. acidophilus</i> probiyotik kültürünün soya sütüne ilavesi. ....	39
Şekil 3.9 : 38 °C’de 48 saat inkübasyon. ....	39
Şekil 3.10 : Seri dilüsyonların hazırlanması. ....	40
Şekil 3.11: Yayma plaka yöntemi ile ekim işlemi. ....	40
Şekil 3.12 : Ekim işlemi sonrası anaerobik koşullarda inkübasyon.....	40
Şekil 3.13 : <i>L. acidophilus</i> ’un inkübasyon sonrası koloni sayma cihazındaki görüntüsü. ....	40
Şekil 3.14 : Enkapsülasyon öncesi son çözeltilerin hazırlanması. ....	41
Şekil 3.15 : Püskürterek kurutucu ile co-enkapsülasyon işlemi ve enkapsül eldesi. .	42
Şekil 3.16 : <i>In vitro</i> gastrointestinal koşullarda canlılığın belirlenmesine ait analiz akış diyagramı. ....	47
Şekil 3.17 : Elma suyunun pastörizasyonu. ....	48
Şekil 3.18 : Pastörize elma suyu. ....	48
Şekil 3.19 : Meyve suyu ve PSF çözeltisi içinde depolama stabilitesi için analiz ortamı.....	50
Şekil 3.20 : Enkapsüllerin deney tüplerine alınması.....	50
Şekil 3.21 : Deney tüplerine meyve suyu ve PSF çözeltisi ilavesi. ....	50
Şekil 3.22 : Depolamaya hazır örnekler.....	50
Şekil 3.23 : Depolama stabilitesinde seri dilüsyonların hazırlanması ve ekim işlemi. ....	51
Şekil 3.24 : Depolama stabilite testlerinde petrilerin anaerobik koşullarda 38 °C’de 48 saat inkübasyonu. ....	51
Şekil 3.25 : İnkübasyon sonrası koloni sayma cihazında <i>L. acidophilus</i> ’un canlı koloni sayımı. ....	51
Şekil 3.26 : İnkübasyon sonrası petrilerde gelişen <i>L. acidophilus</i> kolonileri. ....	51
Şekil 4.1 : HPLC ile farklı dalga boylarında elde edilen kromatogramlar (A: 280 nm, B: 320 nm ve C: 360 nm). ....	62
Şekil 4.2 : Alıç ve alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri.....	65
Şekil 4.3 : Formülasyonlara göre enkapsülasyon verimi (%). ....	66
Şekil 4.4 : Üretilen enkapsüller.....	72
Şekil 4.5 : Farklı kaplama malzemeleri kullanılarak hazırlanmış enkapsüllerin SEM görüntüleri (×10000 ve ×2500 büyütme). ....	76

Şekil 4.6 : F1 (% 30 (w/v) MD) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.....	77
Şekil 4.7 : F2 (% 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu. ....	78
Şekil 4.8 : F3 (% 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu. ....	78
Şekil 4.9 : P3 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu. ....	78
Şekil 4.10 : BK3 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu. ....	79
Şekil 4.11 : Maltodekstrin temelli enkapsüllerin DSC analiz sonuçları. ....	81
Şekil 4.12 : Gastrointestinal koşullarda <i>L. acidophilus</i> 'un canlılığı (log kob/mL)....	84
Şekil 4.13 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi. ....	86
Şekil 4.14 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) değişimi. ....	86
Şekil 4.15 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi. ....	87
Şekil 4.16 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) değişimi. ....	87
Şekil 4.17 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.....	90
Şekil 4.18 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) değişimi. ....	90
Şekil 4.19 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.....	91
Şekil 4.20 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) değişimi. ....	91
Şekil 4.21 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı pH ve canlılık değişimi. ....	94
Şekil 4.22 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı pH ve canlılık değişimi. ....	94
Şekil 4.23 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH ve canlılık değişimi. ....	95
Şekil 4.24 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH ve canlılık değişimi. ....	95
Şekil 4.25 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi. ....	99
Şekil 4.26 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi. ....	99
Şekil 4.27 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi. ....	100
Şekil 4.28 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi. ....	100
Şekil 4.29 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı $\Delta E$ değişimi.....	112
Şekil 4.30 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren elma suyunda zamana bağlı $\Delta E$ değişimi.....	112
Şekil 4.31 : 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı $\Delta E$ değişimi. ....	112
Şekil 4.32 : 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle <i>L. acidophilus</i> içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı $\Delta E$ değişimi. ....	112

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

<b>°B<sub>x</sub></b>	: Briks
<b>ABTS</b>	: 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt
<b>a<sub>w</sub></b>	: Su aktivitesi
<b>BHT</b>	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
<b>DAD</b>	: Diode array dedektör
<b>DPPH</b>	: 2,2-Diphenyl-1-pikryl-hidrozyll
<b>DSC</b>	: Diferansiyel tarama kalorimetresi
<b>FAO</b>	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>FRAP</b>	: Ferric reducing power
<b>FTIR</b>	: Fourier dönüşümü infrared (FTIR) spektroskopisi
<b>GAE</b>	: Gallik asit eşdeğeri
<b>HPLC</b>	: High performance liquid chromatography
<b>IN</b>	: İnülin
<b>KA</b>	: Kuru ağırlık
<b>Kob</b>	: Koloni oluşturan birim
<b>MD</b>	: Maltodekstrin
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>PSF</b>	: % 0.1 (w/v) pepton içeren serum fizyolojik (% 0.85 (w/v) NaCl)
<b>PTFE</b>	: Politetrafloroetilen
<b>SEM</b>	: Scanning electron microscopy
<b>SH</b>	: Standart hata
<b>TE</b>	: Troloks eşdeğeri
<b>T<sub>g</sub></b>	: Glass-transition temperature
<b>Troloks</b>	: (±)-6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid
<b>UV-Vis</b>	: Ultraviyole ve visible (görünür)
<b>v</b>	: Volume (Hacim)
<b>w</b>	: Weight (Ağırlık)
<b>WHO</b>	: World Health Organization
<b>YA</b>	: Yaş ağırlık
<b>YGO</b>	: Yapay gastrik ortam
<b>YIO</b>	: Yapay intestinal ortam
<b>ΔE</b>	: Toplam renk farkı

# ÖZET

Doktora Tezi

## ALIÇ SUYU İLE CO-ENKAPSÜLE EDİLMİŞ *Lactobacillus acidophilus*'un *in vitro* GASTROİNTESTİNAL KOŞULLARDA VE ELMA SUYUNDA STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

FATMA SEZER ÖZTÜRK

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

138+XII sayfa

2022

Danışman: Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT

Son yıllarda, probiyotikleri ve prebiyotikleri içeren fonksiyonel gıdalara olan tüketici talebi giderek artmaktadır. Bu tez çalışmasında püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak sadece maltodekstrin ve maltodekstrin-inülin kombinasyonlarının kullanımı ile alıç (*Crataegus orientalis*) suyu ve *Lactobacillus acidophilus*'un co-enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Püskürterek kurutma sonrası elde edilen enkapsüllerde verim, etkinlik düzeyi, fiziksel özellikler, toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi ve *in vitro* gastrointestinal koşullarda canlılığın incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen enkapsüllerin elma suyuna ilavesi sonucu *L. acidophilus*'un canlılık düzeyi ve depolama stabilitesine etkisi araştırılmıştır. En yüksek enkapsülasyon etkinliği % 15 (w/v) maltodekstrin ve % 15 (w/v) inülinde oluşan formülasyonda belirlenmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi (% 71.53 ± 1.87) formülasyonda sadece maltodekstrinin kullanımıyla elde edilen enkapsüllerde tespit edilmiştir. Serbest ve enkapsül *L. acidophilus* stabilitesi elma suyunda iki farklı sıcaklıkta (4 °C ve 25 °C) zamana bağlı olarak takip edilmiştir. En yüksek canlılık kaybı 25 °C'de belirlenmiştir. Elma suyunda 4 °C'de depolamanın 42. gününde enkapsül içeren örneklerde *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla 6.72 ± 0.02 log kob/mL ve 6.50 ± 0.03 log kob/mL olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Serbest halde enkapsül hale kıyasla depolama sürecine daha duyarlı olduğu görülmüştür. Elma suyunda enkapsül örneklerinin depolanma sürecinde zamana bağlı olarak pH, briks, su aktivitesi ve toplam renk farkı ( $\Delta E$ ) değerlerinin azaldığı, ancak toplam asitlik miktarının arttığı saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile probiyotik içeren gıdaları süt ürünleri dışında da almak isteyen tüketiciler için meyve suyuna co-enkapsül probiyotik ilavesi ile alternatif bir gıda ürünü formüle edilmiştir. Bu sayede meyve ile probiyotiklerin bir arada kullanımı, katma değer oluşturabilecek yeni bir ürün eldesini mümkün kılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Co-enkapsülasyon, *Crataegus orientalis*, Fonksiyonel gıdalar, *Lactobacillus acidophilus*, Prebiyotikler, Probiyotikler

## ABSTRACT

Phd. Thesis

### DETERMINATION OF STABILITY OF *Lactobacillus acidophilus* CO-ENCAPSULATED WITH HAWTHORN JUICE IN *in vitro* GASTROINTESTINAL CONDITIONS AND APPLE JUICE

FATMA SEZER ÖZTÜRK

Inonu University  
Graduate School of Nature and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

138+XII sayfa

2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İncilay GÖKBULUT

Consumer demand for functional foods containing probiotics and prebiotics has been increasing in recent years. In this thesis study, co-encapsulation of hawthorn (*Crataegus orientalis*) juice and *Lactobacillus acidophilus* was carried out using only maltodextrin and maltodextrin-inulin combinations using the spray drying method. It was aimed to determine the yield, efficiency level, physical properties, total phenolic content and antioxidant activity of the capsules obtained after spray drying and to examine the viability in *in vitro* gastrointestinal conditions. The effect of the obtained capsules on the viability level and storage stability of *L. acidophilus* was investigated by adding them to apple juice. The highest encapsulation efficiency was determined in the formulation consisting of 15% (w/v) maltodextrin and 15% (w/v) inulin. The highest encapsulation efficiency ( $71.53 \pm 1.87$ ) was found in the capsules obtained by using only maltodextrin in the formulation. Free and encapsulated *L. acidophilus* stability was monitored over time in apple juice at two different temperatures (4 °C and 25 °C). The highest loss of viability was determined at 25 °C. On the 42nd day of storage in apple juice at 4 °C, the viability of *L. acidophilus* was determined as  $6.72 \pm 0.02$  log cfu/mL and  $6.50 \pm 0.03$  log cfu/mL, respectively ( $P < 0.05$ ). The free state was found to be more sensitive to the storage process than the encapsulated state. It was determined that pH, brix, water activity and total color difference ( $\Delta E$ ) values decreased, but the total acidity amount increased depending on the time during the storage process of the capsule samples in apple juice. As a result, with this study, an alternative food product was formulated with the addition of co-encapsule probiotics to fruit juice for consumers who want to buy probiotic-containing foods other than dairy products. In this way, using fruit and probiotics together will make it possible to obtain a new product that can create added value.

**Key Words:** Co-encapsulation, *Crataegus orientalis*, Functional foods, *Lactobacillus acidophilus*, Prebiotics, Probiotics

## 1. GİRİŞ

İnsanlar artık gıdaları sadece temel besin ve enerji kaynağı olarak değil, aynı zamanda sağlıkları üzerinde olumlu etki gösterecek özel takviyeleri de içeren besinler olarak değerlendirmektedirler. Bu nedenle sağlığı geliştirici bileşenler içeren gıdalara yani fonksiyonel gıdalara olan talep giderek artmaktadır. Bu gıdaların zenginleştirilmesinde probiyotikler, prebiyotikler, polifenoller ve antosiyaninler gibi bileşenler yaygın şekilde kullanılmaktadır. Polifenoller ve antosiyaninler gibi antioksidanlar, koroner kalp hastalığı, iç organların iltihaplanması ve kanser gibi bazı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde gösterdikleri etkileri ile ilgi çekmektedirler (Ivanovic ve diğ, 2014). Bu bağlamda, riskleri ve ikincil etkileri azaltılmış biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi için doğal kaynaklar uygun sürdürülebilir araçlar olarak kabul edilmektedir. Bu doğal kaynaklar arasında alıç meyvesi zengin fenolik içeriği sayesinde yer almaktadır (Zhang ve diğ, 2022). Alıç (*Crataegus*), Rosaceae familyasına ait bir bitkidir ve dünyanın çeşitli bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (González-Jiménez ve diğ, 2018). Biyoaktif bileşenler bakımından zenginliği nedeniyle “besleyici meyve” olarak bilinmekte ve vücuda alımı ile terapötik özellik göstermektedir (Zhang ve diğ, 2022).

Probiyotikler sağlık üzerine ispatlanmış birçok etki göstermektedir. Bunlar arasında gastrointestinal enfeksiyonların kontrolü, laktöz metabolizmasına yardımcı olması, gıdaların sindirilebilirliğinin iyileştirilmesi, serum kolesterol düzeyinin azaltılması, bağışıklık sisteminin uyarılması ve kanserin bastırılması sayılabilmektedir (Zoghi ve diğ, 2019). Bu terapötik etkilerinden faydalanabilmek için ürünün son kullanım tarihindeki minimum canlı probiyotik bakteri konsantrasyonunun 6 logaritmik (log) koloni oluşturan birim (kob)/g civarında olması gerekmektedir (Nilsang, 2021). Konakçıdaki yararlı etkilerini arttırmak için probiyotiklerin, gastrik ortamın sert asidik koşullarından geçerek canlı kalması ve kolonizasyonunu ve çoğalmasını sağlamak için yeterli miktarda kalın bağırsağa ulaşabilmesi gerekmektedir (Li ve diğ, 2011). Gastrointestinal sistemde doğal biyotik popülasyonun aktivitesini desteklemek için probiyotiklerin gıda ürünlerine dahil edilebilmesi söz konusudur. Probiyotik içeren fonksiyonel gıdalar çoğunlukla süt ve ürünlerinden üretilmektedir. Ancak insanların süt ve ürünlerini beslenmelerinde tercih etmemesi (vegan beslenme) ve/veya bu ürünlere karşı alerji göstermesi gibi sebepler alternatif bir ürün ihtiyacı doğurmaktadır. Probiyotikler için ideal substrat olabilecek bir



diğer içecek ise antioksidanlar gibi faydalı bileşikleri de içeren meyve suyudur. Tuorila ve Cardello (2002), meyve suyunun Şeker, vitamin, antioksidan ve mineral madde içermesi nedeniyle probiyotiklerin taŐınmasında kullanılabilircek uygun taşıyıcı olduğunu bildirmiŐtirler. Son yıllarda probiyotik bakterilerin meyve suyunda kullanılması dikkat çeken çalışma konuları arasında yer almaktadır.

Probiyotiklerin yararlı etkilerini teşvik etmek için, çevresel faktörlere maruz kaldığında canlı kalması, insan gastrointestinal sistemdeki metabolik aktiviteyi kolonize edebilmesi ve sürdürülebilmesi gerekmektedir (Rodrigues ve diğ, 2020). Probiyotiklerin gıdalar ile birlikte vücuda alımında terapötik etki gösterebilmeleri bağırsakta canlılıklarını sürdürürebilmelerine bağlıdır. Probiyotiklerin canlılığı üzerinde pH, toplam asitlik, hidrojen peroksit varlığı, oksijen ve depolama sıcaklığı gibi faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (Martín ve diğ, 2015). Meyve suyunun asidik özelliğe sahip olması probiyotik canlılığını doğrudan etkilemektedir. Probiyotiklerin serbest halde meyve suyunda kullanımı ile fermentasyon meydana gelebilmekte ve fermentasyon sonucunda meyve suyunun organoleptik özelliklerinde değişiklikler olabilmektedir. Fermentasyon sonucunda meydana gelen asitlik artışı ve pH düşüşü ile birlikte probiyotik canlılığında azalmalar olmaktadır. Probiyotik canlılığında meydana gelen azalmanın bir diğer görüldüğü yer ise vücuda alımından sonra gastrointestinal sistemden geçiş aŐamasıdır (Ding ve Shah, 2008). Mide yaklaşık 1.5 pH gibi düşük bir pH değerine sahiptir (Gul ve Dervisoglu, 2020). Bu sebeple probiyotikler midenin asidik koşullarına dayanamamaktadır. Bu bakterilerin tüketildikten sonra gastrointestinal sisteme ulaşamadıklarını ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (Dave ve Shah, 1997; Hamilton-Miller ve diğ, 1999). Probiyotiklerin insan vücudunda terapötik etki gösterebilmesi için bağırsak sistemine ulaşması önem arz etmektedir.

Alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen bir meyvedir. Bu tez çalışmasında alıç meyvesinin pomolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve ayrıca alıç ve alıç suyunda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve FRAP) düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Meyvenin HPLC ile fenolik profili, β-karoten ve A vitamini içeriği ile organik asit ve Şeker içeriklerinin de araştırılması amaçlanmıştır.

Probiyotiklerin gastrointestinal sistemde ve meyve suyunda canlılığının en az derecede etkilenecek kalın bağırsağa ulaşması ile insan vücudunda terapötik etki göstermesi ve böylece gıdanın fonksiyonel özelliğe sahip olması söz konusu olmaktadır.

Bu amaçla tercih edilen yöntemlerden birisi enkapsülasyondur. Enkapsülasyon işlemi ile probiyotikler ortamdaki sınırlayıcı faktörlere (düşük pH, safra tuzları ve gastrointestinal sistemde geçiş sırasında karşılaştığı durumlar) karşı bozulmadan korunabilmekte ve belirli şartlar altında kontrollü oranlarda salınabilmesi sağlanmaktadır. Co-enkapsülasyon işlemi ise kapsülasyon sisteminde birkaç çekirdek malzemenin birlikte kapsülasyonu işlemidir. Bu bağlamda, probiyotiklerin prebiyotik özellik gösterecek çekirdek malzemeyle birlikte enkapsülasyonu gerçekleştirilebilmektedir (Chen ve diğ, 2013). Enkapsülasyon sisteminde prebiyotik olarak alıç suyu kullanılmıştır. Kaplama malzemeleri olarak maltodekstrin ve inülinin farklı oranlarda kullanılmasıyla püskürterek kurutma yöntemi ile *L. acidophilus* ve alıç suyunun co-enkapsülasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Co-enkapsülasyon işlemi sayesinde, mevcut yapı daha güçlü hale getirilerek gastrointestinal sistemde geçişin daha kolay sağlanması ve böylece probiyotiklerin canlı kalma potansiyelinin artırılması hedeflenmiştir. Bu yöntem ile yapılan çalışmalar oldukça yeni ve az sayıdadır.

Elde edilen enkapsüllerde, enkapsülasyon verimi ve etkinliğinin belirlenmesi, enkapsüllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi de amaçlanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği belirlemesi ile en uygun enkapsülasyon formülasyonunun saptanması hedeflenmiştir. En yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip formülasyon belirlendikten sonra bu formülasyon ile üretilen enkapsüllerin *in vitro* gastrointestinal koşullara maruz bırakılması ve bu koşullarda *L. acidophilus* canlılığının incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece *in vitro* koşullarda bakterilerin terapötik etki gösterecek miktarlarda kalın bağırsağa ulaşmış ve ulaşmadığının belirlenmesi ve bağırsak ortamında kontrollü salımın gerçekleşmesi hedeflenmiştir.

Enkapsüllerin elma suyuna inokülasyonu sonrası belirli sıcaklıklarda ve sürelerde depolanması ve depolama aralıklarında stabilitesinin ve bazı fizikokimyasal özelliklerinin (pH, toplam asitlik, briks, su aktivitesi ve toplam renk farkı) değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede co-enkapsülasyon işleminin meyve suyundaki probiyotik canlılığı üzerindeki etkisinin incelenmesi ve probiyotiklerin canlılığı için en uygun depolama koşullarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışmasının başarıyla sonuçlandırılması neticesinde bilimsel literatür, halk sağlığı ve ülke ekonomisi üzerine bazı getirilerinin olacağı değerlendirilmektedir. Çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı ve sonrasında gerçekleştirilecek çalışmalar için yol gösterici nitelikte olacağı ön görülmektedir. Probiyotik bakteri ve alıç suyunun co-enkapsülasyonu sonucu elde edilen enkapsüllerin meyve suyuna ilave edilmesi ile birlikte

insanların beslenmesinde terapötik etki gösterecek yeni bir fonksiyonel gıdanın elde edileceği ve böylece sektöre ekonomik açıdan yeni bir ürün kazandırılmış olacağı düşünülmektedir. Ayrıca elde edilen enkapsüllerin farklı gıda sistemlerinde kullanımının da mümkün olacağı varsayılmaktadır.

Prebiyotik olarak kullanılan alıç suyu fenolik bileşik bakımından zengindir. Bu meyvenin kullanılması ile meyvenin değer kazanacağı ve tarımının yaygınlaşmasında rol oynayacağı beklenmektedir. Ayrıca meyvenin kültüre alınacağı ve böylece verimi ve kalitesi daha yüksek olan meyvelerin elde edilmesinin de önünün açılacağı düşünülmektedir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 Fonksiyonel Gıdalar

Fonksiyonel gıdalar terimi, Japon Hükümeti tarafından 1991 yılında tanıtılmış olup probiyotik bakteriler, vitaminler, proteinler, lifler ya da insan sağlığına ve refahına katkı sağlayabilecek diğer gıda katkı maddeleri gibi ekstra bileşenlerle takviye edilmiş olan gıdaları ifade etmektedir (Granato ve diğ, 2010). Fonksiyonel gıdalar içeriğinde bulunan aktif bileşenler sayesinde kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabetin önlenmesine yardımcı olmaktadır (Milner, 2018). Bu aktif maddeler arasında yer alan karotenoidler, flavonoidler, vitaminler ve mineraller, belirtilen hastalıkların risklerini ve etkilerini azaltan metabolitlerin üretilmesini sağlamaktadır. Gıdalardan elde edilen antioksidanlar, vücuttaki serbest radikallerin varlığının nötralize edilmesi, iltihaplanmaların etkili bir şekilde önlenmesi ve lipidler, proteinler ve amino asitler üzerindeki oksidasyonun azaltılması işlevlerini görmektedirler (Peng ve diğ, 2020). Serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik, kardiyovasküler hastalık, kanser ve osteoporoz gibi çoklu kronik hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır.

Bağırsak mikrobiyotasının formülasyonu, büyük ölçüde insanların beslenme şekillerinden etkilenmekte olup özellikle sağlıksız beslenme bağırsak mikrobiyotasının bozulmasına neden olarak disbiyozise yol açabilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen bozulma, belirli fırsatçı patojenlerin büyümesine, bakteriyel enfeksiyonlara, kronik inflamasyona neden olabilmekte ve hatta bu durum kanser gibi ciddi hastalıkları da ortaya çıkarabilmektedir (Peng ve diğ, 2020). Fenolik bileşikler, probiyotikler, prebiyotikler ve vitaminler gibi fonksiyonel gıdaların farklı aktif bileşenleri, bağırsak mikrobiyotasını değiştirebilmekte ve bağırsak sağlığını geliştirebilmektedir.

Orta yaşı geçkin kişiler tarafından fonksiyonel gıdaların tüketimi üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada, probiyotik yoğurdun tüketilen bütün fonksiyonel gıdaların % 56.0'sını oluşturarak en popüler gıda olduğu rapor edilmiştir (Vella ve diğ, 2013). Probiyotikler gıda sistemlerinde sıklıkla süt ve süt ürünleri ile birlikte kullanılmaktadır. İnsanlar binlerce yıldır yoğurt gibi fermente gıdaları tüketmektedir. Fermentasyon sadece gıdaların korunmasında değil aynı zamanda fermente edilmemiş gıdalara kıyasla bazı gıdaların sindirilebilirliğinin artırılmasında da rol oynamaktadır (Caplice ve Fitzgerald 1999). Ayrıca, fermentasyon sırasında üretilen laktik asit, gıda matrislerinin tadı ve

dokusunu değiştirerek fermente ürünlerin kalitesini iyileştirebilmektedir (Kun ve diğ, 2008).

Bazı insanların süt ve süt ürünlerine karşı alerjik reaksiyon gösteriyor oluşu ya da vegan beslenme şeklini benimsemiş oluşu ve yahut süt ve süt ürünlerini tüketmekten zevk almıyor oluşu probiyotik içeren gıdaları tüketemeyeceği anlamına gelmemelidir. Son zamanlarda probiyotiklerin unlu mamuller, meyve/sebze suları, fermente ürünler vb. gibi süt ürünü olmayan gıdalarla birleştirilmesi söz konusudur. Meyveler ve ürünlerinin vitaminler, antioksidanlar ve polifenoller gibi değerli besinler bakımından zengin bileşime sahip olması nedeniyle probiyotikler için çok faydalı taşıyıcılar olabileceği kabul edilebilmektedir. Bu bağlamda probiyotik içerikli meyve suları probiyotik tüketimini beslenme sistemine dahil etmek isteyen insanlar için bir alternatif olabilir. Probiyotiklerin meyve suyunda serbest halde kullanımı ile fermentasyon meydana gelebilmekte ve buna bağlı olarak depolama süresi boyunca canlılıkta azalmalar görülebilmektedir.

Probiyotik içeren gıdaların fonksiyonel özelliklerinden söz edebilmek için içerdiği probiyotik miktarının yeterli düzeyde olması gerekmektedir. Probiyotik bazlı fonksiyonel gıdaların düzenli tüketiminin günde yaklaşık 100 g ( $10^9$  canlı hücre) olması gerektiği ve bunun da günlük  $10^6$ – $10^8$  kob/mL veya kob/g dozla sağlanabildiği bildirilmiştir (Rashidinejad ve diğ, 2020). Meyve suyuna ilave edilen probiyotiklerin depolama sürecinde sayısal olarak azalmasının önüne geçebilmek için enkapsülasyon tercih edilen popüler teknolojilerden birisini oluşurmaktadır. Enkapsülasyon teknolojisi ile probiyotiklerin gıda sistemlerinde ve gastrointestinal sistemden geçiş sırasında korunmaları sağlanmaktadır.

## 2.2 Probiyotikler

Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO), probiyotikleri “yeterli miktarlarda uygulandığında konağın sağlığı üzerinde faydalı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır (Stokstad, 1954). Bu terim genel olarak laktik asit bakterileri (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. ve *Enterococcus* spp.) gibi mikroorganizmaları ve gıdadaki fonksiyonel özelliklerinin yanı sıra daha çok sağlığı geliştirici aktiviteleri ile bilinen *Saccharomyces* spp. gibi bazı mayaları ifade etmektedir (Doron ve Snyderman, 2015). Bağırsak veya gıda kaynaklı probiyotik suşlar dış etkenlere karşı farklı tolerans göstermektedirler. Örneğin, gıdalardan izole edilen probiyotik suşlar genellikle işleme sırasında sıcaklık ve pH değişikliklerine karşı daha yüksek toleransa

sahipken bağırsaktan izole edilen probiyotik suşlarla karşılaştırıldığında gastrointestinal sistemde canlı kalma oranının daha düşük olduğu bilinmektedir (Klein ve diğ, 1998).

Probiyotikler gıda ürünlerinde doğru şekilde kullanıldığında sağlığı geliştirici özellik gösteren canlı biyolojik sistemlerden biri olarak kabul görmektedir (Mokhtari ve diğ, 2019). Probiyotik tüketiminin, diyare, tekrarlayan *Clostridium difficile* koliti, *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, inflamatuvar bağırsak hastalığı, diyabet, obezite, kabızlık, kadın ürogenital enfeksiyonları ve bazı kanser türlerine (özellikle kolon kanseri) kadar çeşitli hastalıkların tedavisinde yardımcı olduğu bildirilmiştir (Angmo ve diğ, 2016; Rashidinejad ve diğ, 2020). Probiyotiklerin diğer yararlı etkileri arasında bağışıklık sistemini geliştirme, laktoz intoleransını iyileştirme, serum kolesterol seviyesini düşürme, besin maddelerinin kullanımını artırma ve antibiyotik kullanımını azaltma gibi kanıtlanmış etkileri sayılabilmektedir (Guo ve diğ, 2010). Probiyotik olarak kabul edilecek mikroorganizmanın seçiminde, gastrointestinal sistemde normalde var olan bir mikroorganizma olmasına, gastrointestinal sistem boyunca koşullar doğrultusunda aktif kalmasına ve sindirim sisteminde uygunluğunu ve güvenilirliğini ortaya koyuyor olmasına dikkat edilmelidir (Oberoi ve diğ, 2019).

Probiyotikler, gıda sistemlerinde besinlerin tükenmesi, ürün matrislerinde ozmotik ve oksidatif strese maruz kalma, gastrointestinal sistemdeki sıcaklık, asit ve safra gibi canlılıklarını ve işlevselliklerini olumsuz yönde etkileyebilecek çeşitli stres faktörleriyle karşılaşmaktadırlar (Terpou ve diğ, 2019). Probiyotiklerin yararlı özelliklerini ortaya çıkarabilmeleri için bir ortama uyum sağlamaları ya da korunmaları gerekmektedir. Ayrıca gıda sistemlerine probiyotiklerin eklenmesi fermantasyon ve uzun süreli depolama sırasında organik asitler gibi farklı metabolitlerin oluşması nedeniyle nihai gıda ürününün tadı ve aromasında değişikliğe neden olabilmektedir.

### **2.2.1 Probiyotik canlılığını etkileyen faktörler**

Gıda ürünlerinin işlenmesi ve depolanması sırasında probiyotiklerin canlılığı etkileyen bazı faktörler bulunmaktadır. Bunlar, gıda parametreleri (pH, toplam asitlik, oksijen, su aktivitesi, tuz, şeker ve kimyasalların varlığı (hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )), bakteriyosinler, yapay tatlandırıcı ve renklendirici maddeler gibi), işleme parametreleri (pastörizasyon, soğutma hızı, ambalaj malzemeleri, depolama yöntemleri, oksijen seviyeleri ve hacmi) ve mikrobiyolojik parametrelerden (probiyotik türleri ve aşılama oranı gibi) meydana gelmektedir (Zoghi ve diğ, 2019). Gıda endüstrisinde çoğunlukla kullanılan

katkı maddeleri arasında şekerler, tatlandırıcılar, tuzlar, aroma bileşikleri (diasetil, asetaldehit ve aseton), doğal veya yapay tatlandırıcı ve renklendirici maddeler, nitrit, nisin, natamisin ve lizozim bulunmaktadır (Tripathi ve Giri, 2014). Bu katkı maddelerinin fermente edilmiş ve edilmemiş ürünlerde kullanılan probiyotik bakterilerin canlılığında olumlu veya olumsuz etkileri olabilmektedir. Glukoz, vitaminler, mineraller ve antioksidan gibi farklı katkılar depolama sırasında probiyotiklerin (*Lactobacilli* ve *Bifidobacteria* gibi) canlılıkları üzerinde olumlu etkiler gösterirken, et hamuruna eklenen sodyum nitrit, et fermantasyonunda probiyotik bakteriler için zorluk teşkil etmektedir (Mohammadi ve diğ., 2011; Kolożyn-Krajewska ve Dolatowski, 2012).

Oksijen seviyesi ve redoks potansiyeli probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen önemli faktörlerden birisini oluşturmakta ve probiyotiklerin oksijeni tolere edebilme yeteneği değişkenlik göstermektedir (Lee ve Salminen, 2009). Oksijenin bazı probiyotik hücreler için doğrudan toksik olması, bazı kültürlerin oksijen varlığında toksik peroksitler üretmesi ve bileşenlerin (örneğin yağlar) oksidasyonundan üretilen serbest radikallerin probiyotik hücreler için toksik olması probiyotiklerin oksijenden etkilenme sebeplerini oluşturmaktadır (Korbekandi ve diğ., 2011).

Oksijen varlığı gibi nem seviyesi de probiyotiklerin canlılığına zarar vermektedir. Ying ve diğ. (2010) numunelerin saklandığı ortamdaki bağıl nem artışı ile birlikte su hareketliliğinin arttığını ve buna bağlı olarak canlılık kaybı oranında da artışın olduğunu ifade etmişlerdir. Depolama sırasında ortamdaki yüksek asitlik ve düşük pH probiyotiklerin canlılığı üzerinde önemli stres koşulları oluşturmaktadır. Çok düşük bir pH, fermente ürünlerdeki organik asitlerin konsantrasyonunun artışıyla beraber bu asitlerin bakterisit etkisini de arttırmaktadır. *L. acidophilus* ve *Bifidobacteria*'nın büyümesi için optimum pH aralığı sırasıyla 5.5-6.0 ve 6.0-7.0'dir (De Vuyst, 2000). Laktobasillerin, pH değerleri 3.70 ile 4.30 arasında olan fermente ürünlerde büyüebildiği ve canlılıklarını devam ettirebildiği bildirilmektedir (Boylston ve diğ., 2004).

Probiyotiklerin canlılığını, seçilen suşun tipi, ürünün doğal mikroflorası, üretilen enzimler, çeşitli patojenik veya bozulmaya neden olan mikroorganizmaların oluşumu gibi birçok biyolojik faktörün etkilediği de bilinmektedir (Hossain ve diğ., 2017). Probiyotiklerin canlılığını etkileyen fiziksel faktörler arasında depolama sıcaklığı, kurutma yöntemleri ve koşulları veya oksijen seviyeleri bulunmaktadır. Probiyotiklerin depolama sırasında canlılığı, depolama sıcaklığı ile ters orantılıdır (Gardiner ve diğ., 2000). Probiyotik gıda ürünleri tercihen 4-5 °C sıcaklıkta depolanması gerekmektedir

(Mortazavian ve diğ, 2007). Simpson ve diğ. (2005), püskürterek kurutulmuş Bifidobacteria türlerinin 15 ve 25 °C’de depolanması sırasında canlı sayılarında önemli azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca fermantasyon sıcaklığı da probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkilemektedir. Çoğu probiyotikler için optimum gelişme sıcaklığı 37-43 °C aralığında olmakla birlikte *L. acidophilus* gibi bazı bakteriler 45 °C’de de gelişimlerine devam edebilmektedirler (Tripathi ve Giri, 2014). Gıdaların işlenmeleri sırasında uygulanan 45 °C’nin üzerindeki sıcaklıkların probiyotik canlılığı üzerine olumsuz etki gösterdikleri bilinmektedir.

### 2.2.2 Laktik asit bakterileri

Probiyotikler gastrointestinal sistemde doğal biyotik popülasyonu desteklemek için gıda ürünlerine katılabilmektedir. Yararlı özellikleri nedeniyle gıda endüstrisi tarafından en yaygın şekilde kullanılan probiyotik türleri süt ürünlerinde bulunan laktik asit bakterileridir. Çizelge 2.1’de probiyotik olarak yaygın şekilde kullanılan laktik asit bakterileri verilmiştir. Bu bakterilerin çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen, katalaz negatif ve fakültatif anaerob oldukları bilinmektedir. Laktik asit bakterileri şekerleri fermente etmekte ve Embden Meyerhof Parnas (EMP) yolu ile son ürün olarak laktik asit üretmektedirler (Kenneth, 2009). Fermentasyona göre laktik asit bakterileri homofermentatif ve heterofermentatif olarak sınıflandırılmaktadır (Neish, 2017; Sousa ve diğ, 2020). Homofermentatif laktik asit bakterileri fermentasyon sonucunda sadece laktik asit üretirken, heterofermentatif laktik asit bakterileri ise CO<sub>2</sub>, hidrojen peroksit, asetik asit ve alkol ile birlikte laktik asit üretmektedir (Gandhi, 2006).

**Çizelge 2.1 :** Probiyotik olarak yaygın şekilde kullanılan laktik asit bakterileri.

Probiyotik bakteriler			
Lactobacillus spp.	Bifidobacterium spp.	Enterococcus spp.	Streptococcus spp.
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. cremoris</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>L. delbrueckii</i> ssp.	<i>B. animalis</i>		<i>S. diacetylactis</i>
<i>L. cellobiosus</i>	<i>B. infantis</i>		<i>S. intermedius</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>B. thermophilum</i>		
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>		
<i>L. lactis</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. brevis</i>			



Gıda teknolojisinde laktik asit bakterilerinin kullanım amaçları arasında, asidik tadın oluşması, sütün jelleşmesi, laktozun azaltılması ve aroma oluşumu yer almaktadır. Laktik asit bakterileri, gıdalarla birlikte vücuda alınan, midenin asidik ortamında iyi bir şekilde canlı kalabilen ve daha sonra karbonhidratı laktik asit ve diğer temel besinlere dönüştürebilen en yararlı probiyotiklerdendir. Bu mikroorganizmalar bağırsakta laktik asit üretimiyle birlikte pH seviyesinin düşmesine neden olmakta ve bu da patojen mikroorganizmaların büyümesine ve canlı kalmasına engel olmaktadır (Nichols, 2007).

Laktik asit bakterileri, patojen olmamaları, gastrointestinal sistemde normal mikrobiyotada bulunabilmeleri ve uygun mikroflora dengesini koruyabilmeleri sebebiyle insan sağlığı için güvenli kabul edilen Gram pozitif bakterilerdir (Angmo ve diğ, 2016). Bunlar gastrointestinal sisteminde arzu edilen mikrofloralardır ve bu nedenle ‘genel olarak güvenilir kabul edilirler (GRAS)’(Tannock, 1997). Laktik asit bakterileri fermentasyona dahil olmakta, fermente ürünlerde baskın mikroflorayı oluşturmaktadır. Laktik asit, asetik asit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bakteriyosin, diasetil ve CO<sub>2</sub> üreterek gıdaların korunmasında önemli bir rol oynadıkları ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaları veya gıda kaynaklı patojenlerin gelişimlerini engelleyebildikleri bilinmektedir (Yüksekdağ ve Aslım, 2010).

### **2.2.1.1 *Lactobacillus acidophilus***

En yaygın olarak bilinen laktik asit bakterilerinden biri olan *L. acidophilus*’u, Moro 1900 yılında bebek dışkılarından *Bacillus acidophilus* olarak tanımlamışken daha sonra 1970 yılında Hanson ve Moquot bu mikroorganizmayı yeniden isimlendirmişler (Anjum ve diğ, 2014). Yaklaşık 2-10 µm boyutunda, çubuk morfolojisine sahip Gram pozitif bir mikroorganizma olan *L. acidophilus*’un homofermentatif olduğundan, heksozları fermente etmek için glikoliz veya EMP yolunu kullandığı ve D ve L-laktik asitler ürettiği bilinmektedir (Hutkins, 2006). *L. acidophilus*, pH 4-5’te 30 ile 45 °C sıcaklıkta büyüme gösteren termofilik bir suştur (Jones, 1999). Johnson ve diğ. (1980), fizyolojik özellikler temelinde *L. acidophilus*’un maksimum miktarda laktik asit ve asetik asit (hidrojen ve katalaz içermeyen) ürettiğini rapor etmişler.

Laktik asit bakterileri, bakteriyosinler veya bakteriyosin benzeri peptitler üretmektedirler. Bakteriyosinler, proteinli yapıya sahip doğal antimikrobiyal ajanlar olmakla birlikte suş üretmenin dışında bakteriler için öldürücü etki göstermektedirler (Deraz ve diğ, 2005). Probiyotik bakteriler, bakteriyosin üretimlerinden dolayı konağın gastrointestinal sisteminde kolonize olmakta ve gastrointestinal patojenlerden koruma

sağladığı için faydalı kabul edilmektedirler (Anjum ve diğ, 2014). Laktasin B ve asidosin, *L. acidophilus*'in ürettiği bilinen bakteriyosinlerden bazılarıdır.

Günümüzde potansiyellerinin ve sağlık avantajlarının artırılması için probiyotik mikroorganizmaların gıdalara eklenmesi büyük ilgi görmektedir. *L. acidophilus* cinsine ait olan probiyotikler bu amaçla en sık kullanılan mikroorganizmalardır (Saxelin ve diğ, 2005). *L. acidophilus*'un canlılığı, bağıl nem, oksijen içeriği, stabilizatörler ve sıcaklık gibi büyüme koşulları ve depolama faktörleri gibi birçok etkene bağlı olmaktadır. Bu probiyotiğin, gastrointestinal sistemde canlı kaldıktan sonra, tip 2 diyabet, enterik enfeksiyonlar, alerjik dermatit, böbrek ve karaciğer yetmezliği, ishal, çeşitli inflamatuvar bağırsak hastalığı formlarının tedavisi, kolon kanseri hücrelerinin sayılarının azaltılması, laktozun zayıf emilim semptomlarının giderilmesi ve olası antikanser aktivitesi ile ilgili özellikler dahil olmak üzere serum kolesterol konsantrasyonlarını kontrol etme, tümör gelişimi riskini azaltma ve daha iyi sindirim yoluyla bağışıklık sistemini uyarma gibi çeşitli faydaları olduğu bilinmektedir.

### **2.3 Prebiyotikler**

Prebiyotik terimi ilk olarak Gibson ve Roberfroid (1995) tarafından ifade edilmiş ve “kolondaki bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyararak konağı faydalı bir şekilde etkileyen ve böylece konağın sağlığını iyileştiren sindirilemeyen bir gıda bileşeni” olarak tanımlanmıştır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), 2008 yılında prebiyotikleri “mikrobiyotanın modülasyonu ile bağlantılı olarak konağa sağlık yararı sağlayan cansız bir gıda bileşeni” olarak ifade etmiştir (Pineiro ve diğ, 2008). Son yıllarda ise prebiyotikler, bağırsakta mevcut olan yararlı mikroorganizmaların büyümesini ve metabolik aktivitesini seçici olarak uyaran ve çoğunlukla konağın sağlığı üzerinde yararlı etkiler sağlayan mikroorganizmalar tarafından kullanılan, sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak belirtilmektedir (Peng ve diğ, 2020). Genellikle kısa zincirli ve düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlar olan ve insan sindirim enzimleri tarafından sindirilemeyen prebiyotikler, kalın bağırsaktan kolay bir şekilde geçebilmekte ve endojen gastrointestinal mikrobiyotası için bir beslenme kaynağı görevi görebilmektedir (Rashidinejad ve diğ, 2020). Prebiyotikler gastrointestinal mikrobiyotasının bileşiminde ve/veya aktivitelerinde belirli değişiklikleri teşvik etmekle birlikte aynı zamanda mikrobiyal rekabete neden olmakta ve istenmeyen bakteri popülasyonlarını azaltmaktadır (Khuituan ve diğ, 2019).

Prebiyotiklerin fermentasyondan bağımsız olarak bebekleri enfeksiyondan koruması, açlık insülin seviyesini azaltabilmesi, ishal ve diğer bulaşıcı hastalıkların tedavisi ve bağırsak fonksiyonlarının iyileştirilmesi gibi sağlık üzerine faydalı etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Krumbeck ve diğ, 2018). Prebiyotikler, patojenik mikroorganizmaların çoğalmalarını sınırlandırarak antagonistik etki göstermektedirler. Bu özellikleri, sindirim ortamındaki probiyotiklerin metabolizmasını, canlılığını, büyümesini ve sağlığı geliştirici aktivitelerini artırmasını desteklemektedir (Rashidinejad ve diğ, 2020). Bu nedenlerden ötürü probiyotikler ve prebiyotiklerin bu kombinasyonu ‘simbiotikler’ olarak ifade edilmektedir (Kechagia ve diğ, 2013). Prebiyotikler olarak sınıflandırılan gıda bileşenleri, üst gastrointestinal sistemde hidrolize edilmemeli veya emilmemeli, bir veya sınırlı sayıda kolonik bakteri için seçici bir substrat olmalı, bağırsak mikrobiyotasını daha sağlıklı bir bileşime dönüştürmeli ve konak sağlığı üzerine luminal veya sistematik etkiler yaratmalıdır (Ziemer ve Gibson, 1998).

Gıda endüstrisi, sağlık bilincine sahip tüketicilere yönelik gıdalarda üretime fonksiyonel bileşenler olarak prebiyotikleri dahil etmektedir. Prebiyotikler esas olarak oligosakkaritler, çözünür lifler ve üç ila altı zincirli şeker moleküllerinden oluşmaktadır. Son zamanlarda, oligosakkaritler, inülin, laktuloz, pirodekstrinler, dirençli nişasta, şeker alkolleri, levanlar ve laktosükroz gibi prebiyotikler, fonksiyonel gıdalara yenilikçi bir yaklaşım getirmek ve gıda bileşenlerinin işlevlerini geliştirmek üzere sıklıkla ilave edilmektedir (de Paulo Farias ve diğ, 2019). Prebiyotik karbonhidratlar, meyve (muz, çilek, kuşkonmaz, sarımsak, buğday, yulaf ezmesi, arpa), sebze (karalahana, pazı, lahana, hardal yeşillikleri ve diğerleri) ve baklagillerde (mercimek, barbunya, nohut, lacivert fasulye, beyaz fasulye, siyah fasulye) doğal olarak bulunmaktadır (Sekhon ve Jairath, 2009).

Bitkiler prebiyotiklerin potansiyel kaynaklarından birisidir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin *in vitro* koşullarda bakteriler için potansiyel besin kaynağı olabildiği ve prebiyotik gibi davranabildiği vurgulanmaktadır (Tzounis ve diğ, 2008). Polifenoller, bitkilerin çiçekleri, yaprakları, küspesi, sapları ve kökleri dahil olmak üzere birçok yerinde bulunan ikincil metabolitlerdir. Birincil metabolitler ve ara maddelerden biyosentetik yollarla üretilmektedir. Polifenoller ve antosiyaninler gibi antioksidanlar, konjestif kalp yetmezliği, iç organların iltihaplanması ve kanser gibi bazı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde öngörülen etkileri göz önüne alındığında özellikle ilgi konusudur (Ivanovic ve diğ, 2014).

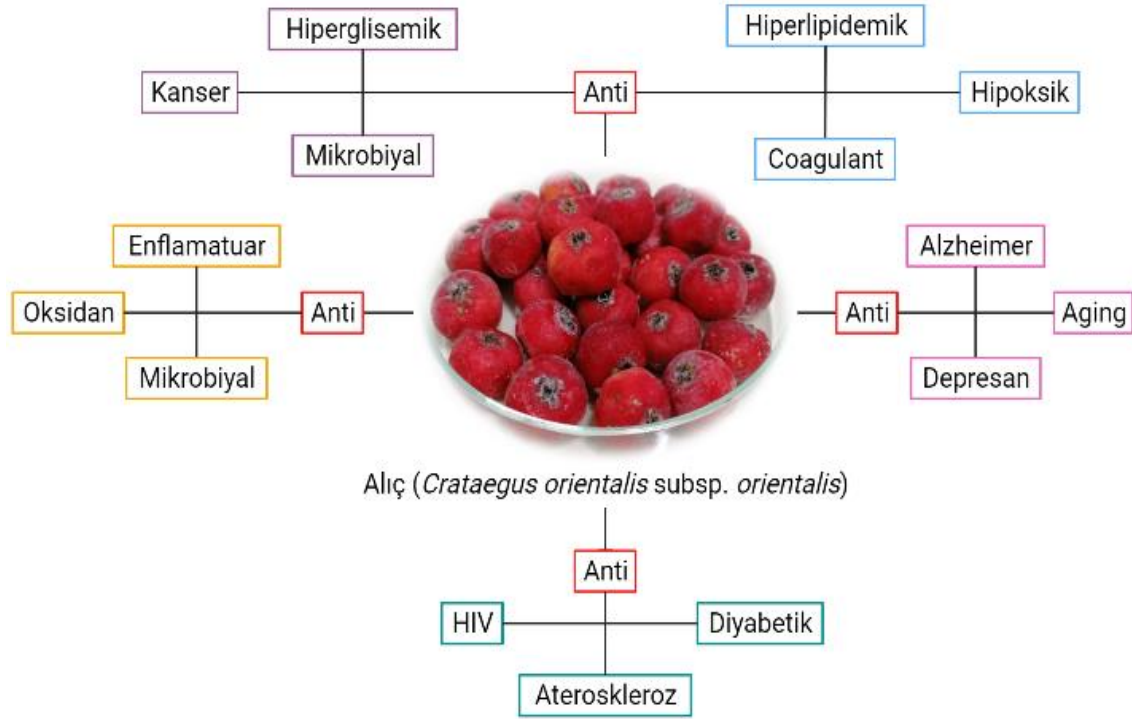
#### 2.4 Alıç (*Crataegus orientalis* subsp. *orientalis*)

Alıç, Rosaceae familyasının *Maloideae* alt familyasına ait olan ve yaklaşık 1000 türden oluşan, ülkemizde ve dünyanın çeşitli bölgelerinde doğal olarak yetişen önemli bir bitkidir (González-Jiménez ve diğ., 2018). Dünya çapında *Crataegus*'un zengin tür çeşitliliği, tohumları yaydıkları için kuşlara ve diğer hayvanlara atfedilmektedir. Bu bitki, deniz seviyesinden 1500 m yüksekliğe kadar, ağırlıklı olarak kireçli topraklarda ve güneşli alanlarda yetişmektedir (Nazhand ve diğ., 2020). Ayrıca bu bitkinin yetişme sürecinde fazla su ihtiyacı da bulunmamaktadır. Alıç, ilkbaharda salkımlar halinde bol ve göze çarpan çiçekleri olan dikenli ağaç veya çalılar olarak görülürken sonbaharda sarımsı, turuncu veya kırmızımsı meyveler veren ve meyvelere benzer renklere dönüşen loblu yapraklara sahip olan bir bitkidir (Gundogdu ve diğ., 2014). Alıç (*Crataegus* spp.) için genetik açıdan önemli bir merkez olan Türkiye'de alıç türleri geniş bir yayılım alanına sahiptir. Ancak Türkiye'de alıç tür ve çeşitleri tescil edilmediği için üretimi doğada kendiliğinden yetişerek gerçekleşmektedir. Bu durum alıç bitkisinin yetiştiriciliği yapılan bir meyve türü olmadığını göstermektedir (Ağlar ve diğ., 2020). Bu algının ortadan kalkması için alıçta tür ve çeşitlerin belirlenmesine ve kayıt altına alınmasına gidilmelidir. Türkiye'nin hemen her yöresinde yetişebilen ve çok sayıda türe sahip olan alıç bitkisinin özelliklerinin tespit edilmesi ile çok değerli alıç tür ve çeşitlerinin yok olmasının önüne geçilmelidir.

*Crataegus* cinsi bitkilerden geleneksel tıpta yaygın bir şekilde faydalandığı gibi gıda ürünlerinde ve tıbbi araştırmalarda da kullanılmaktadır. Alıç bitkisinin meyveleri, yaprakları ve çiçek özleri hipertansiyon ve kalp yetmezliğini önlemek amacıyla kullanıldığı gibi Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da kalp hastalıklarının tedavisinde ve Çin'de esas olarak ticari ürünlerin üretilmesi amacıyla tercih edilmektedir (Zhang ve diğ., 2022). Bu bitkinin kuru çiçek ve meyveleri ile hazırlanan çayların bademcik iltihabı, öksürük, zayıf koroner aktivite, kalp ağrısı, taşikardi, böbrek hastalıkları, damar sertliği, karaciğer ağrısı ve hemoroid tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Özderin ve diğ., 2016).

Alıç meyvesinin göstermiş olduğu terapötik özellikler Şekil 2.1'de verilmiştir (Venskutonis, 2018; Nazhand ve diğ., 2020). Bu meyve kalp damar sağlığını desteklemekte, anjina, hipertansiyon, kalp yetmezliği, kardiyak aritmiler, miyokardit, damar sertliği, uykusuzluk ve kaygıdan korumaktadır (Edwards ve diğ., 2012; Nazhand ve diğ., 2020). Ayrıca, meyvelerin idrar söktürücü ve ishale, idrar retansiyonuna ve bağırsak

kramplarına karşı olumlu etkileri bulunmaktadır. Sağlık üzerine gösterdikleri terapötik özellikleri dolayısıyla alıç meyvesinin tüketimi giderek artış göstermektedir. Taze alıç meyvesi, herhangi bir fumigasyon veya yıkama yapılmadan doğrudan yenebilmektedir. Son yıllarda dünya genelinde alıç ile sirke, reçel, atıştırmalık yiyecekler ve fonksiyonel içecekler üretilmektedir.

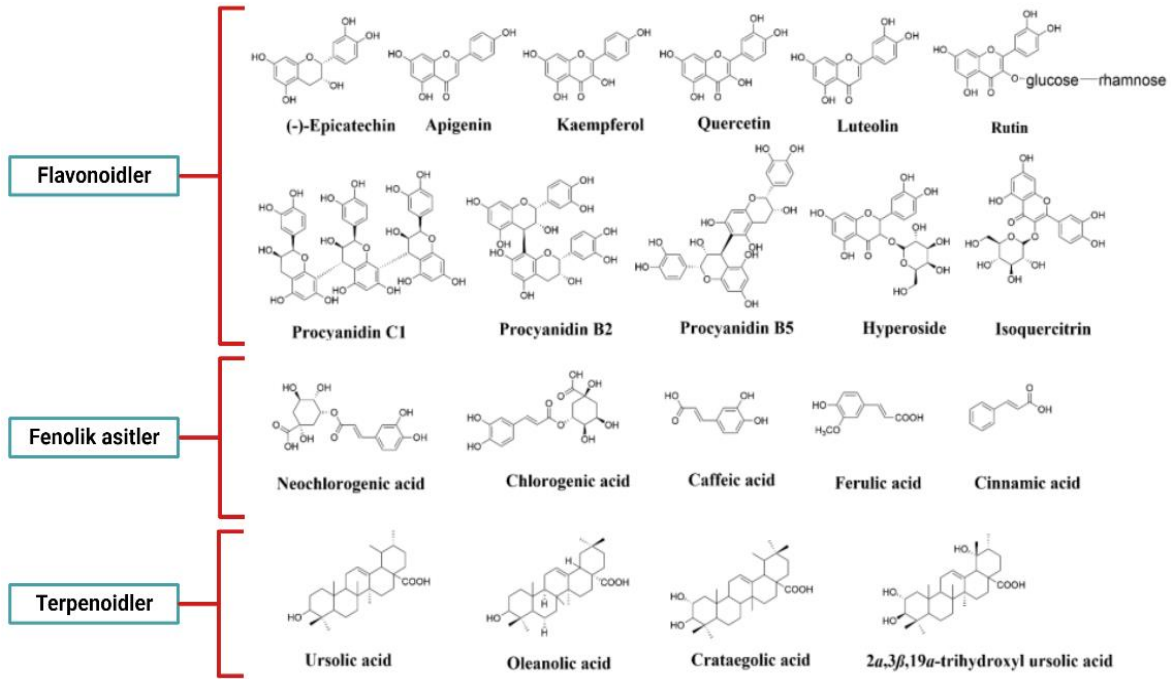


Şekil 2.1 : Alıç meyvesinin terapötik özellikleri.

Alıç bitkisinin meyveleri, yaprakları ve çiçekleri biyoaktif bileşikler bakımından zengindir. Alıçta fenolik bileşiklerin biyolojik etkilerinin belirlenmesi esas olarak etanol, metanol, su veya bu çözücülerin karışımları kullanılarak yapraklardan, çiçeklerden ve meyvelerden elde edilen ekstraktların kullanılması ile tespit edilmektedir (Ferioli ve diğ., 2020). Alıç bitkisinin kimyasal analizleri sonucunda, fenolik asitler (ferulik, gallik, p-kumarik, şirincik, klorojenik, kafeik), kuersetin, pirokateşin, florodizin, terpenoidler, lignanlar, steroidler, organik asitler (sitrik, malik, fumarik, tartarik, süksinik) ve şekerler (maltoz, sukroz, glukoz, fruktoz) dahil olmak üzere 150'den fazla biyoaktif molekülün tanımlanması gerçekleştirilmiştir (Wu ve diğ., 2014; Orhan, 2018). Alıçta bulunan başlıca fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 2.2'de gösterilmiştir (Zhang ve diğ., 2022).

Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu üzerinde çeşitli çevresel faktörler etkili olmaktadır. Bu bağlamda, daha yüksek büyüme sıcaklıkları ve CO<sub>2</sub> seviyesi fenolik bileşiklerin flavonoid içeriğini ve konsantrasyonlarını arttırmakta iken, gübreleme (yüksek

azot seviyesi gibi) ve toprağın nem ihtiyacındaki artış ise fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarını azaltmaktadır (Keinänen ve diğ, 1999; Wang ve diğ, 2003). Farklı bölgelerde yetiştirilen alıçların kimyasal bileşimini alıç çeşidi, çevre koşulları, genotipi ve bitki hasadı ve hasat yöntemleri, hasat sonrası işlemler ve işleme durumu gibi koşullar etkilemekte ve buna bağlı olarak fenolik bileşik içerikleri de farklılık göstermektedir (Özcan ve diğ, 2005; Alirezalu ve diğ, 2020; Lou ve diğ, 2020; Zhang ve diğ, 2022).



**Şekil 2.2 :** Alıç meyvesinde bulunan başlıca fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.

Oksidasyon, proteinlerin, vitaminlerin, doymamış esansiyel yağ asitlerinin ve antosiyanin, karotenoid ve miyogloblin gibi pigmentlerin ayrışması yoluyla gıdanın besin değeri, duyuşsal özellikleri (renk, aroma gibi), doku özellikleri ve raf ömrü stabilitesi gibi özelliklerini etkileyebilmektedir (Lorenzo ve diğ, 2018).

Yapılan çalışmalarda, alıç bitkisinin değerli biyoaktif bileşikler bakımından potansiyel bir kaynak olduğu ve bu antioksidan özelliğe sahip bileşiklerin (prosiyanidinler, flavonoidler, flavonoller, fenolik asit ve antosiyanin), oksidasyon reaksiyonlarını katalize eden metallerle kompleks oluşturarak ve enzimlerin aktivitesini engelleyerek etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Szajdek ve Borowska, 2008; González-Jiménez ve diğ, 2018). Ayrıca, böylesi bileşiklerin serbest radikalleri süpürdüğü ve lipid peroksidasyonunu azalttığı için güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları da rapor edilmiştir (Zheng ve diğ, 2018).

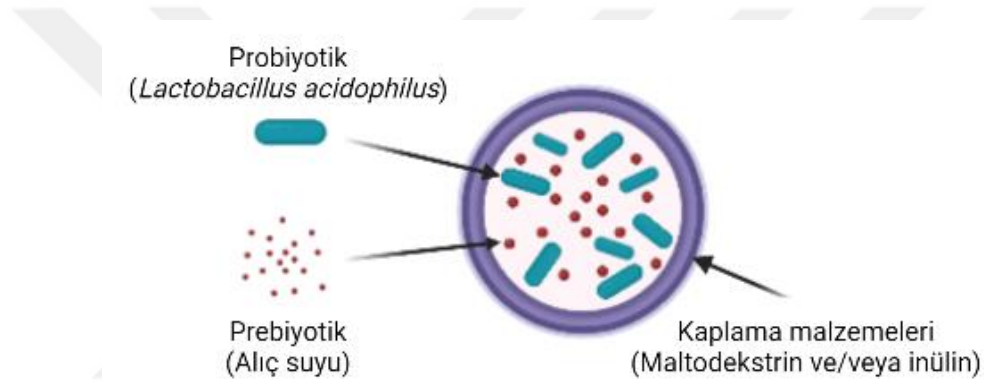
## 2.5 Co-enkapsülasyon

Probiyotiklerin sağlık üzerine olası pozitif etkileri, gıdaların işlenmesi sırasında ve gastrointestinal koşullar gibi tüketim sonrası süreçlerde canlı kalmaları ile ilgilidir (Afzaal ve diğ., 2020). Probiyotikler, biyoyararlanımlarını olumsuz etkileyen enzimatik reaksiyonlar (proteazlar), pH değişimleri ve safra tuzları nedeniyle gastrointestinal sistemde bazı zorluklarla karşı karşıya kalmaktadırlar. Probiyotik kaybını önlemek için fonksiyonel gıdaları formüle etmeden önce tüm bu durumların göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Probiyotik bazlı fonksiyonel gıdalarda bu zorlukları engellemek, canlılık kaybını en aza indirmek ve probiyotiklerin stabiliteğini geliştirebilmek için olası çözümlerden biri enkapsülasyon işlemidir. Enkapsülasyon, probiyotik hücreleri ortamdaki zararlı faktörlere karşı bozulmadan koruyabilen ve belirli şartlar altında kontrollü oranlarda salınabilmesini sağlayan, probiyotiklerin kapsülleyici bir matris veya membran içine dâhil edildiği bir işlemdir (Shori, 2017). Enkapsülasyon, dış etkenlerden probiyotikleri koruyarak onların konak üzerinde yararlı etkiler göstermesi için ince bağırsağa ulaşmasını ve koloni oluşturma yeteneğini teşvik etmektedir. Doğal biyoaktif bileşiklerle probiyotiklerin tüketimi, özellikle COVID-19 salgınında kan basıncının ve zihinsel sağlığın korunması, uyku bozukluklarının ortadan kaldırılması ve bağışıklığın güçlendirilmesinde ilaçlara bir alternatif olarak görülmüştür (Misra ve diğ., 2021).

Probiyotiklerin enkapsülasyonu ile;

- Çok küçük boyutlarda partiküllerin elde edilmesi,
- Probiyotiklerin canlılığının pH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, oksijen ve depolama sıcaklığı gibi zararlı çevresel faktörlere karşı korunması,
- Dış çevreden çekirdek materyale geçiş oranının azaltılması,
- Sıvı gıda matrislerinin su içeriğinin azaltılması,
- İstenmeyen bozulma olaylarının önlenmesi,
- Probiyotik bakterilerin salımının kontrol edilebilmesi,
- Depolama süresinin uzatılması,
- Fonksiyonel gıda ürünlerinde probiyotiklerin stabilitesinin artırılması, sağlanmaktadır (Li ve diğ., 2011; Fritzen-Freire ve diğ., 2012; Martín ve diğ., 2015).

Probiyotiklerin enkapsülasyonu, bakterinin türü ve yaşam koşulları, taşıyıcı boyutu, kaplama malzemesi, taşıyıcı stabilitesi, kütle transferi ve bağırsakta salınım mekanizması gibi önemli parametreleri göz önünde bulundurarak bakterileri koruyabiliyorsa beklenen gereksinimi sağlamış başarılı bir sistem olarak kabul görmektedir (Rashidinejad ve diğ., 2020). Probiyotiklerin enkapsülasyon başarı oranlarının düşük olmasının en önemli nedenlerinden biri enkapsül ortamındaki canlılıklarının düşük olmasıdır. Enkapsül ortamındaki probiyotik canlılığının ve stabilitesinin korunması amacıyla probiyotiklerin prebiyotiklerle birlikte enkapsülasyonu gerçekleştirilmektedir. Co-enkapsülasyon, bir kapsülasyon sisteminde birkaç çekirdek malzemenin birlikte kapsülasyonu işlemidir (Chen ve diğ., 2013). İki veya daha fazla biyoaktif bileşenin co-enkapsülasyonunun temel şematik gösterimi Şekil 2.3’de verilmiştir.



Şekil 2.3 : Probiyotik bakteri ve alıç suyu co-enkapsülasyonu.

### 2.5.1 Gastrointestinal sistemde probiyotiklerin durumu ve co-enkapsülasyonun önemi

İnsan gastrointestinal sistemi, ağızdan bağırsağa kadar çeşitli bakteri türlerinin ve popülasyonlarının bulunduğu hayli karmaşık bir ekosistemdir (Hooper ve diğ., 2001). Kalın bağırsakta yaklaşık 500 farklı bakteri türü olduğu bilinmekle birlikte hala büyük çoğunluğu tanımlanamamıştır (Tannock, 2001). Bununla birlikte, yaş, beslenme şekli, sağlık durumu, stres düzeyi, hormonlar ve ilaçlar gibi farklı faktörlerin bu bağırsak mikroflorasını önemli ölçüde değiştirebileceği de bilinmektedir (Rashidinejad ve diğ., 2020). Gastrointestinal sistemde, konağı doğrudan veya dolaylı olarak farklı hastalıklara ve bozukluklara (ülseratif kolit, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi) yatkın hale getirebilen zararlı bakterilerin yanı sıra laktobasiller ve bifidobakteriler gibi sağlığı geliştirici bakterilerde bulunmaktadır. Bu bakteriler, antijenlere, patojen mikroorganizmalara ve farklı kökenlerden gelen zararlı bileşiklere karşı hayati bir bariyer özelliği göstermektedir (Gill ve Guarner, 2004; Gaudreau ve diğ., 2016).

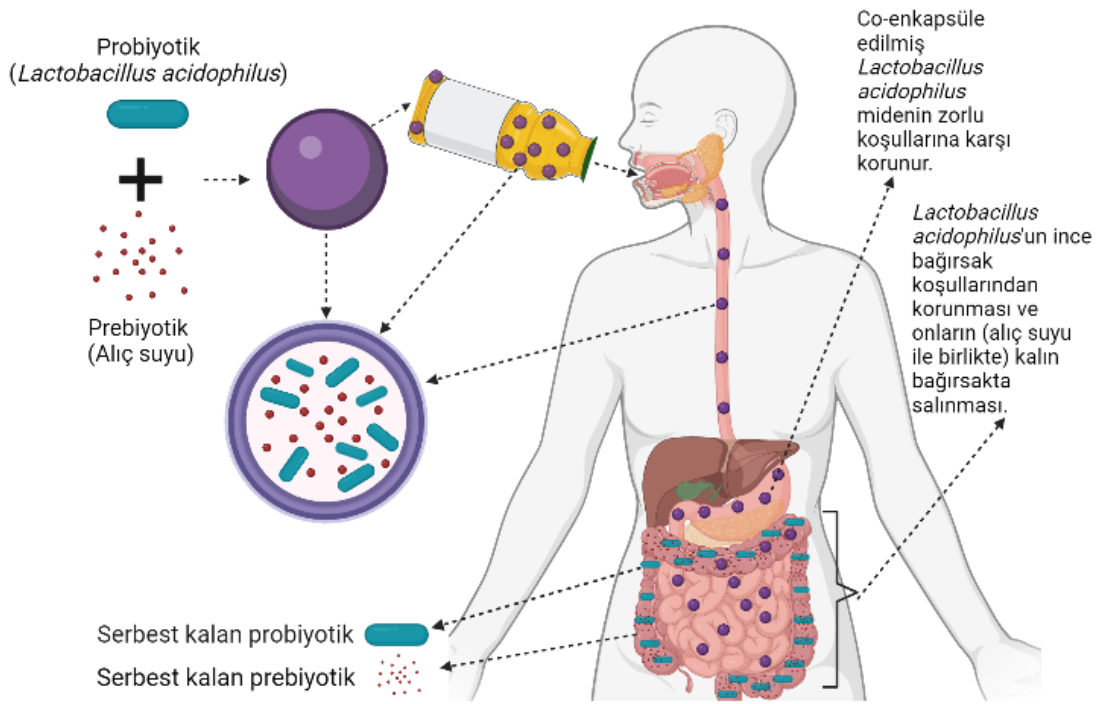


Gastrointestinal sistemde probiyotiklerin canlılığı, probiyotiğin bağırsağa taşınmasını sağlayan fonksiyonel ürünle ilişkili olmakla birlikte ürünün pH'ı, fermantasyonu sırasında asidifikasyonu, hidrojen peroksit üretimi, gıdanın saklama koşulları ve özellikle sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir (Fávaro-Trindade ve diğ, 2011). Bu bağlamda probiyotiklerin kaplama malzemesi ile enkapsülasyonu, gıda sistemindeki ve midedeki olumsuz koşullara karşı korunmalarını ve gastrointestinal sistemin sonraki bölümünde kontrollü salımlarını ve daha fazla korunmalarını sağlamaktadır.

Probiyotikler ve prebiyotiklerin co-enkapsülasyonu, gastrointestinal sistemdeki hedef canlı mikrobiyal suşların dayanıklılığının artırılması, bağışıklık uyarıcı, antimikrobiyal, antikanser ve anti-alerjik özellikler gibi sağlık avantajları sunmaktadır (Fazilah ve diğ, 2018). Enkapsüle edilmiş probiyotik bakteriler gastrointestinal sistemin sert koşullarından kaplama malzemeleri sayesinde korunmaktadır. Probiyotikleri içeren enkapsüller, uygun şekilde tasarlandıklarında probiyotik bakterileri hedef varış noktaları olan bağırsağa ulaşana kadarki karşılaşacağı zor koşullardan koruyabilmektedirler. Genel olarak biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyon sistemlerinden salımlarında etkili olan ana mekanizmalar, çözünme, bölme, erozyon, şişme, difüzyon ve ozmozdur (Jafari ve diğ, 2017). Probiyotiklerin inülin, polidekstroz gibi prebiyotiklerle co-enkapsülasyonu sonucu gastrointestinal sistemden geçiş sırasında probiyotik canlılığında kayıp olmadığı ve antioksidanlar ile co-enkapsülasyonu ile de işleme ve depolama sırasında bakterilerin düşük pH ve oksidatif stres gibi zararlı koşullardan korunduğu bildirilmiştir (Atia ve diğ, 2017; Misra ve diğ, 2021).

Şekil 2.4'te gösterildiği gibi, probiyotik ve prebiyotiklerin co-enkapsülasyonu ile hazırlanmış olan enkapsüllerin meyve suyu ile vücuda alınımında, probiyotiklerin karşılaştığı ilk stres ortamı midedir ve asidik oluşu (yaklaşık 1.5 pH) probiyotiklerin canlılığını azaltmakta ve hatta yok etmektedir. Enkapsülasyon ile midenin zararlı koşullarından probiyotiklerin korunması söz konusudur. Enkapsüle probiyotikler, nötre yakın pH ile pankreatin ve safra içeren ince bağırsakta canlılıklarını sürdürebilmektedir. Fakat, bu ortam da probiyotik bakterilerin salınması için ideal bir yer değildir. Gastrointestinal sistemde son olarak kalın bağırsağa (kolon) ulaşan probiyotikler, bağırsağın bu bölümünde daha fazla çoğalmaları için mukusa bağlanmakta ve böylece onlara yardımcı olan ideal bir durumda salılabilmektedirler. Ayrıca, enkapsül içinde yer alan prebiyotiklerin de kalın bağırsağa salımı ile büyümeleri desteklenmektedir (Banerjee ve diğ, 2017; Albadran ve diğ, 2018). Bu belirtilen durumlar, probiyotiklerin stabilitesini, canlılığını ve buna bağlı

olarak biyoyararlanımını geliştirmek için co-enkapsülasyonu en popüler yöntemlerden biri haline getirmektedir.



**Şekil 2.4 :** Co-enkapsüle edilmiş probiyotik ve prebiyotiklerin gastrointestinal sistemdeki durumu.

Co-enkapsülasyonda tercih edilecek yönteme karar verilirken probiyotiklerin fizyolojik özelliklerini olumsuz etkilemeden canlı bakterilerin en korunaklı şekilde bağırsağa iletilebilmesine dikkat edilmelidir. Probiyotiklerin enkapsülasyonunda çoğunlukla tercih edilen yöntemlerden bazıları püskürterek kurutma, ekstrüzyon, emülsifikasyon, akışkan yatak ve kompleks koaservasyondur (Sousa ve diğ, 2015; Peredo ve diğ, 2016; Misra ve diğ, 2021). Prebiyotikler ile probiyotiklerin püskürterek kurutma yöntemi ile co-enkapsülasyonunun gerçekleştirildiği çalışmalarda probiyotiklerin stabilitesinin ve canlılığının önemli ölçüde iyileştirildiği görülmüştür (Pinto ve diğ, 2019; Tao ve diğ, 2019).

### 2.5.2 Püskürterek kurutma yöntemi

Püskürterek kurutma, beslemenin sıcak bir kurutma ortamına püskürtülmesi sonucu sıvı halden kuru bir ürüne dönüştürülmesidir ve genellikle aktif bileşenleri ve ısıya duyarlı bileşikleri korumak için kullanılmaktadır (Piñón-Balderrama ve diğ, 2020). Çoğu zaman bir dehidrasyon işlemi olarak kabul edilen püskürterek kurutma, çözücünün hızlı bir şekilde buharlaştırılmasını (çoğunlukla su) ve ilgilenilen bileşiğin yarı anlık olarak

tutulmasını ve kabuğun hızlı bir şekilde oluşmasını içermektedir (Rodea-González ve diğ., 2012). Püskürterek kurutma, sıvı beslemenin 10-150 µm boyutundaki ince damlacıklar halinde atomizasyonunu ve ardından 150-250 °C sıcaklıktaki sıcak ve kuru havaya püskürtülmesiyle gerçekleştirilmektedir (Misra ve diğ., 2021). Enkapsülasyonda püskürterek kurutma yöntemi, düşük nem içeriğine ve homojen boyut dağılımına sahip partikül oluşumunu sağlaması, yüksek verimde ürün elde edilmesi, diğer yöntemlere göre nispeten daha ucuz olması ve mevcut ekipmanlarla yapılabilir olması sebebiyle çoğunlukla gıda endüstrisinde tercih edilmektedir.

Probiyotikler gibi canlı mikroorganizmalar ısıya karşı oldukça hassas olmalarına karşın püskürterek kurutmada işlem süresinin kısa olması sebebiyle tercih edilmektedir. Probiyotiklerin enkapsülasyonunda amaç, canlı hücreleri zararlı çevre koşullarına, işleme operasyonlarına, gıda matrisi etkilerine ve gastrointestinal sistemdeki stres koşullarına karşı korunmasını sağlamaktır (Burgain ve diğ., 2011). Püskürterek kurutma sırasındaki yüksek sıcaklık uygulamaları (özellikle çıkış sıcaklıkları) probiyotik hücreler için zararlı olabilmektedir. Yüksek sıcaklık, bakterilerin sitoplazmik membranını, hücre duvarını, DNA ve RNA'sını olumsuz yönde etkileyen stres oluşumlarına neden olmakta ve böylece metabolik aktiviteleri azaltmaktadır (Tripathi ve Giri, 2014). Ayrıca püskürterek kurutma işlemi sırasında probiyotiklerin hücre geçirgenliği artabilmekte ve bu da hücrenin iç bileşenlerinin kaybına yol açabilmektedir (De Prisco ve Mauriello, 2016). Bu olumsuz durumların önüne geçebilmek veya en aza indirmek için bazı parametrelere dikkat edilmesi gerekmektedir.

Viskozite, katı madde içeriği, yüzey gerilimi, kaplama ve çekirdek malzemeleri ve bunların konsantrasyonu ve optimum besleme formülasyonunun seçilmesi, maksimum enkapsülasyon etkinliği ile yüksek ürün veriminin elde edilmesi açısından önemlidir (Assadpour ve Jafari, 2019). En iyi enkapsülasyon sürecine karar verirken giriş ve çıkış sıcaklıkları, kurutucu gaz akış hızı ve nem, besleme akış hızı ve atomizer basıncı ve hızı gibi püskürterek kurutma parametreleri optimize edilmelidir. Ayrıca püskürterek kurutma işlemi ile probiyotiklerin enkapsülasyonunda seçilen suşun tipi, suşun stres koşullarını tolere edebilme yeteneği, püskürterek kurutma işleminde sıcaklığa maruz kalma süresi, püskürterek kurutma işlemi sonrası su aktivitesi ve saklama koşulları da etkili olmaktadır (Liu, 2012). Bu parametreler dikkate alınarak uygun kaplama malzemesi seçimi ve mikroorganizmaya zarar vermeyecek sıcaklık değerleri dikkate alınarak enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmelidir.

Enkapsülasyonda kullanılan püskürterek kurutma işleminin faydaları şunlardır (Assadpour ve Jafari, 2019):

- Parçacık boyutunun, şeklinin ve morfolojisinin kontrol (amorf/kristal form, gözeneklilik) edilebilir olması.
- Sisteme verilen kapsülasyon çözeltilerini doğrudan enkapsüllere dönüştürebilir olması.
- Kontrollü salım özelliklerine sahip enkapsüllerin elde edilmesi.
- Oldukça yapışkan beslemelerde dahi enkapsülasyonun sağlanması.
- Püskürterek kurutma işleminin basit ve kolay kullanılabilir olması.
- Isıya duyarlı maddelerin korunmasının sağlanması.
- Enerji açısından verimli bir işlem olması.
- Yüksek enkapsülasyon etkinliği ve raf ömrü sunması.
- Ön ısıtma işleminin yapılabilir olması sayesinde yüksek viskoziteli beslemelerle çalışma imkânı sunması.
- Hidrofilik ve hidrofobik özellik gösteren gıda bileşenlerine uygulanabilmesi.

Püskürterek kurutma işleminde probiyotik suş seçilirken ozmotik, oksidatif ve termal strese karşı dirençlerine göre seçilmelidir. *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Bifidobacterium* gibi farklı türler, yüksek sıcaklıkların uygulanması nedeniyle püskürterek kurutma koşullarına daha duyarlıdır. Su aktivitesinin azalması nedeniyle bakteriler ozmotik strese karşı dirençli hale gelir ve karbonhidratlar, amino asitler veya kuaterner aminler gibi uyumlu çözünen maddeleri biriktirerek canlılıklarını sürdürürler (Wood, 2011). Pnömatik cihazlarla donatılmış endüstriyel ölçekli püskürterek kurutucular, tozu hemen soğutarak canlılığı sürdürmeyi sağlamaktadır. Püskürterek kurutma ile probiyotiklerin enkapsülasyonunda kaplama malzemeleri olarak çeşitli biyopolimerler kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan kaplama malzemeleri arasında aljinat, maltodekstrin, inülin, zamklar, nişasta ve kitosan gibi karbonhidratlar ve süt proteinleri gibi proteinler bulunmaktadır (Kavıtak ve diğ, 2018). Bu kaplama malzemeleri yalnız başına kullanılabildikleri gibi daha iyi korumanın ve daha yüksek enkapsülasyon etkinliğinin sağlanması amacıyla birlikte de kullanılabilirlerdir.

### 2.5.3 Kaplama malzemeleri

Kaplama malzemeleri, çekirdeğin etrafını saran ve onun dış koşullara (ışık, oksijen ve nem gibi) karşı korunmasını sağlayan bariyer olarak ifade edilmektedir (Pech-Canul ve diğ, 2020). Ayrıca duvar, zar, taşıyıcı malzeme, kabuk, matris veya dış faz olarak da adlandırılmaktadır. Kaplama malzemesinin çekirdek malzemenin yüzeyindeki yerleşimi, enkapsülün fonksiyonel özellikleri için ana belirleyicidir. Ek olarak kaplama malzemeleri, çekirdek malzemeyi içeren bir ve/veya daha fazla kaplama malzemesi kullanılarak düzenlenebilmektedir.

İdeal bir kaplama malzemesinde bulunması gereken özellikler ise şöyledir (Piñón-Balderrama ve diğ, 2020):

- Çekirdek malzeme ile reaksiyona girmemelidir.
- Enkapsül içindeki çekirdek malzemeyi kapatabilmelidir.
- Çekirdek malzemeyi çevresel koşullara (oksijen, ısı, ışık ve nem) karşı koruma yeteneği yüksek olmalıdır.
- Yüksek konsantrasyonlarda uygun reolojik özellikler (düşük viskozite) göstermelidir.
- Üretilen emülsiyonu stabilize etmenin yanı sıra biyoaktif materyali dağıtmak veya emülsifiye etmek için kimyasal afinite sergilemelidir.
- Kullanımı kolay olmalıdır.

Probiyotik bakterilerin zorlu koşullara karşı daha iyi bir şekilde korunabilmesinde enkapsülasyon malzemelerinin tipi, konsantrasyonu ve fizikokimyasal özellikleri etkili olmaktadır (Abd ElSalam ve El-Shibiny, 2015; Rodrigues ve diğ, 2020). Kaplama malzemelerinin kullanımlarında güvenli olarak sınıflandırılabilmesi için biyo-uyumlu ve stabil olması ve ayrıca toksik olmaması gerekmektedir. Bu malzemeler, gastrointestinal sistemden geçiş sırasında kontrollü salıma yardımcı olmalıdır (Dong ve diğ, 2013; Rodrigues ve diğ, 2020). Probiyotiklerin enkapsülasyonunda çoğunlukla polisakkaritler (aljinat, karragenan, nişasta, kitosan, ksantan ve arap zamları gibi), proteinler (süt proteinleri, soya proteinleri, zein ve kolajen gibi) ve lipidler (yağlar ve mumlar gibi) dahil olmak üzere birçok biyomateryal tercih edilmektedir (Abd ElSalam ve El-Shibiny, 2015). Biyomateryaller, yapısal kaplamaları oluşturmak için genellikle tek başına veya karışımlar halinde kullanılmaktadır (Quirós-Sauceda ve diğ, 2014).

Probiyotikler, canlı mikroorganizmalar oldukları için su veya gazların ( $O_2/CO_2$ ) varlığına duyarlıdır. Kaplama malzemelerinin birleştirilmesiyle kaplamanın fiziksel özelliklerinin iyileştirilebildiği ve değiştirilebildiği bilinmektedir. Kaplama malzemesi, nem, gaz değişimi, çözünen migrasyonu, oksidatif reaksiyon oranları vb. içeren mide ortamına karşı stres tepki mekanizmalarının kontrolü yoluyla mikroorganizmaya koruma sağlamaktadır. Ayrıca UV ışığı ve ısı gibi olumsuz dış koşullardan da korumaktadır (Pech-Canul ve diğ., 2020). Enkapsüllerin maruz kaldığı fiziksel ve/veya kimyasal işlemler ile birlikte kaplama ve/veya çekirdek malzemesinin bileşimindeki küçük değişiklikler de elde edilen enkapsüllerin nihai özelliklerinde büyük farklar yaratmaktadır (Janjarasskul ve Krochta, 2010).

Polisakkaritler, hidroksil gruplarına sahip monosakkarit bloklarından oluşan ve molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları yoluyla su veya diğer moleküllerle etkileşime girebilen biyopolimerlerdir. Kaplama malzemelerinin tipi ve oranı, enkapsül boyutu, enkapsülasyon etkinliği, enkapsüllerin morfolojisi, nem içeriği, su aktivitesi ve çözünürlük gibi özelliklerle ilgilidir (Xiao ve diğ., 2022). Farklı kaplama malzemelerinden oluşan karışımların püskürterek kurutma yönteminde uygulanmasının kurutma işlemine faydalı olduğu veya elde edilen kapsüllerin fiziksel özelliklerini iyileştirdiği ve insan sağlığı için de ek faydalar sağladığı rapor edilmiştir (Nilsang, 2021). Maltodekstrin ve inülin bu amaçla birlikte kullanılmaktadır. Maltodekstrin ve inülinin şeker açısından zengin sistemlerin kurutulmasında taşıyıcı ajanlar olarak kullanılması olanaklıdır (Araujo-Díaz ve diğ., 2017).

### **2.5.3.1 Maltodekstrin**

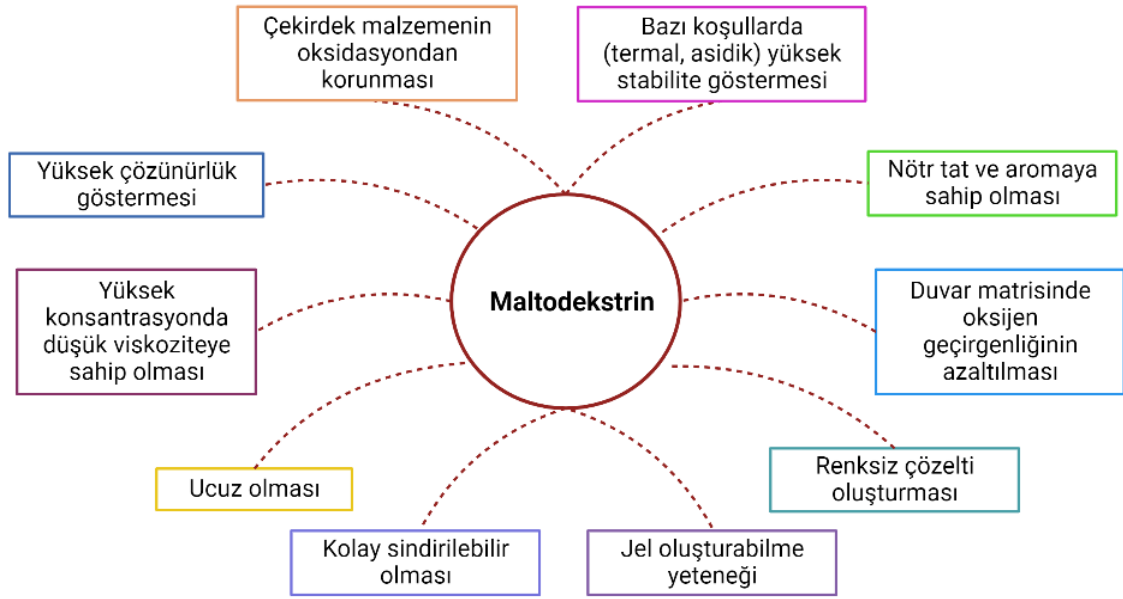
Maltodekstrin, nişastanın asit ve/veya kontrollü enzimatik hidrolizi ile elde edilen,  $\alpha$ -(1,4) ve  $\alpha$ -(1,6) glikozidik bağlarıyla birleştirilen D-glukoz polimerleridir (Garnero ve diğ., 2013; Du ve diğ., 2021). Bu polimerdeki glukoz ve maltoz içerikleri sırasıyla % 2-3 ve % 5-7 oranındadır. Maltodekstrin, nötr tada yakın hafif tatlılıkta bir polisakkarit olmakla birlikte suda kolayca çözünürken alkolde az veya hemen hemen hiç çözünmeyen bir özellik göstermektedir (Lalasa ve diğ., 2013).

Dekstroz eşdeğeri ve polimerizasyon derecesi, maltodekstrinler arasında değişen ve onların özelliklerini tanımlayan iki parametreyi oluşturmaktadır. Dekstroz eşdeğeri, 3 ila 20 aralığında olmakla birlikte karbonhidrat zincirinin uzunluğunu ve yüksek ve düşük moleküler maddelerin kompleks bir karışımı olduğunu ifade etmektedir (Lalasa ve diğ.,

2013; Saavedra-Leos ve diğ, 2015). Yüksek dekstroz eşdeğerine sahip maltodekstrin ile elde edilen enkapsüllerde vakuollerin çap ve sayısının daha küçük olduğu ve daha pürüzsüz yüzeye sahip olan enkapsüllerin elde edildiği bildirilmektedir (Xiao ve diğ, 2022). Böylece enkapsüllerin çekirdek malzemeler üzerindeki koruyucu etkisi iyileştirilebilmekte, çekirdek malzemenin stabilitesi geliştirilebilmekte ve enkapsülasyon etkinliği arttırılabilmektedir.

Dekstroz eşdeğeri arttığında maltodekstrinin camsı geçiş sıcaklığı (T<sub>g</sub>) düşmektedir (Zhang ve diğ, 2018). Bhandari ve Howes (1999), maltodekstrinde dekstroz eşdeğerinin 36'dan 5'e düşmesi ile birlikte T<sub>g</sub>'ninde 100 °C'den 188 °C'ye arttığını bildirmişlerdir. Sıcaklık T<sub>g</sub>'ye ulaştığında çekirdek malzemenin oksidasyon hızı maksimuma ulaşmaktadır. Püskürterek kurutma işlemi ile enkapsül eldesinde düşük dekstroz eşdeğerine sahip maltodekstrin kullanımında hidrofilik bileşiklerin daha iyi şekilde tutulduğu belirtilmiştir (Soottitawat ve diğ, 2015). Ayrıca yüksek dekstroz eşdeğerine sahip maltodekstrin ile hazırlanan enkapsüllerin ise aglomerasyona daha yatkın olduğu bilinmektedir (Cozzolino ve diğ, 2021). Fakat, teknik uygulamalarda maltodekstrinin yapı içerisindeki performansının değerlendirilmesi için dekstroz eşdeğerinin hatalı bir parametre olduğunun teyit edildiğinin bildirildiğine dikkat etmek gerekir (Saavedra-Leos ve diğ, 2015). Maltodekstrinin kimyasal bileşimini hidroliz sırasında uygulanan tür ve koşullar etkilemekte ve benzer dekstroz eşdeğerine sahip maltodekstrinlerin zıt fiziksel özellikler sergileyebildikleri ifade edilmektedir (Chronakis, 1998). Bu nedenlerden ötürü polimerizasyon derecesi, maltodekstrin performansının anlaşılması için daha doğru bir parametre olabilmektedir.

Maltodekstrin eklenmesi bütün sistemin camsı geçiş sıcaklığını (T<sub>g</sub>) arttırmakta ve böylece kekleşmeyi ve yapışmayı azaltmaktadır. Ayrıca maltodekstrin kullanımı ile püskürterek kurutma sırasında duvar birikimi azaltılmakta ve verim arttırılmakta olup çekirdek malzemenin yüksek sıcaklıkta kurutulması sırasında oksitlenmesi veya yok edilmesi de önlenmektedir (Fitzpatrick ve diğ, 2017; Zhang ve diğ, 2018). Maltodekstrinin enkapsülasyon işleminde kaplama malzemesi olarak kullanılma nedenleri Şekil 2.5'te verilmiştir (Pech-Canul ve diğ, 2020, Xiao ve diğ, 2022). Maltodekstrin, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozitesi nedeniyle enkapsülasyonda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca, maltodekstrinin suda göstermiş olduğu yüksek çözünürlük de sıvı beslemenin atomizasyonuna ve kurumasına elverişli olan damlacıkların görünür viskozitesinin önemli ölçüde azaltılmasına yardımcı olmaktadır (Vladić ve diğ, 2016).



**Şekil 2.5 :** Enkapsülasyon işleminde maltodekstrinin kullanım nedenleri.

Yapılan çalışmalarda, daha yüksek kaplama malzemesi konsantrasyonunun, kurutma sırasında partikül yüzeylerinde film oluşumu için gereken süreyi azalttığı ve bunun da iyileştirilmiş enkapsül geri kazanımı ve enkapsülasyon etkinliği ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Alvarenga Botrel ve diğ., 2012; Burhan ve diğ., 2019). Yüksek katı içeriği emülsiyon viskozitesinin artmasına, kuruma için gereken sürenin uzamasına ve enkapsül veriminin azalmasına neden olmaktadır. Maltodekstrinin daha yüksek konsantrasyonlarda hazırlanması, püskürterek kurutma sırasında uygulama süresinin kısılmasını ve çekirdek malzemenin ısı kaybının önlenmesini mümkün kılmaktadır (Xiao ve diğ., 2022). Kaplama malzemesi konsantrasyonu için en yüksek verim genellikle % 25 ile % 30'luk bir kaplama malzemesi konsantrasyonunda elde edilmektedir. Konsantrasyonun bu değerlerin üzerine çıkması viskozitenin daha da artmasına neden olmakta ve püskürterek kurutma sırasında partikül oluşumunu geciktirmekte ve böylece enkapsülasyon etkinliğinin azalmasına yol açmaktadır. Enkapsülasyonda en önemli özelliklerin başında enkapsülasyon etkinliği gelmektedir. Enkapsülasyon etkinliği üzerinde etkili olan bazı faktörler, kaplama malzemelerinin tipi, bileşimi ve oranıdır (Mehran ve diğ., 2020). Düşük viskozitesi ve zayıf emülsiyon oluşturma yeteneği sebebiyle maltodekstrin farklı kaplama malzemeleri ile kombinasyon haline getirilerek de kullanılmaktadır (Fazaeli ve diğ., 2012). Maltodekstrin çekirdek malzeme üzerindeki koruyucu özelliklerinin geliştirilebilmesi için polisakkaritlerle (akasya zıncığı ve inülin gibi) ve proteinlerle (zein, kazein ve whey proteinleri gibi) birleştirilebilmektedir.



### 2.5.3.2 İnülin

İnülin, kuşkonmaz, sarımsak, hindiba, pırasa, soğan ve enginar gibi yenilebilir bitki kaynaklarından elde edilen lineer bir polisakkarittir ve  $\beta$ -glikozidik bağlarla bağlanan fruktoz monomerik birimlerinden meydana gelmektedir. İnülin, tek başına veya diğer biyopolimerlerle birlikte kaplama malzemesi olarak kullanılabilir (Mitmesser ve Combs, 2017; Rodrigues ve diğ, 2020). İnülin, fonksiyonel özellikleri, düşük fiyatı ve aynı zamanda insan sağlığına sağladığı faydalar nedeniyle kaplama malzemesi olarak tercih görmektedir. İnülin üst gastrointestinal sistemde sindirilmez, çünkü insanlarda inülinde bulunan  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) tipi bağları kırabilen enzim yoktur (Silva ve Meireles, 2015). Bifidobacterium ve Lactobacilli türleri, inülinin hidrolize edilmesini sağlayan enzimi üretmektedirler (Mitmesser ve Combs, 2017; Xavier dos Santos ve diğ, 2019). Bu bağlamda inülin kalın bağırsakta prebiyotik özellik göstermekte, probiyotik bakterilerin korunması ve canlılıklarının iyileştirilmesine yardımcı olmaktadır.

İnülin, kalın bağırsak mikroflorası tarafından kısa zincirli yağ asitleri, laktik asit ve gaza fermente edilmektedir (Fernandes ve diğ, 2014). İnülin tüketimi ile diyet lif içeriği yüksek besin alımı sağlanmakta ve kalsiyum biyoyararlanımının iyileştirmesinde, antikanser ve immünomodülatör özellikler göstermesinde etkili olmaktadır (Castel ve diğ, 2018). Düşük hidroliz kapasitesi, pH değişimlerine dayanıklı enkapsüllerin hazırlanmasını olanaklı kılmaktadır (Dima ve diğ, 2016). İnülin yalnızca probiyotiklerde bulunan enzimler sayesinde hidrolize edilebildiği için gastrointestinal sistem boyunca bozulmaya duyarlı biyoaktif bileşiklerin korunmasında uygun kaplama malzemesi özelliği göstermektedir (Beirão-da-Costa ve diğ, 2013).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Bitki ve probiyotik bakteri

Bu çalışmada kullanılan kültüre alınmamış alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesi Niğde ilinin Ulukışla İlçesine bağlı Elmalı köyü (37° 34' 21.5" N ve 34° 47' 27.5" E) doğal bitki florasından 2019 yılının Kasım ayında temin edilerek laboratuvara getirilmiştir. *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin taksonomik olarak tanımlaması Prof. Dr. Ali Aslan DÖNMEZ (Kıdemli Taksonomist, Hacettepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye) tarafından gerçekleştirilmiştir. Alıç meyvesi kullanılmaya kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir. Tez çalışması kapsamında kullanılmış olan alıç meyvesi Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 : Alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesi.

Probiyotik bakteri kültürü olarak kullanılan liyofilize *L. acidophilus*, Maysa Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. (İstanbul) firmasından temin edilmiştir.

##### 3.1.2 Besiyeri ve dilüsyon sıvıları

*L. acidophilus* suşunun aktifleştirilmesi amacıyla bitkisel ortam olarak steril soya sütü (Alpro, Danone Tikveşli Gıda ve İçecek San. ve Tic. A.Ş.) tercih edilmiş olup bu steril soya sütü piyasadan satın alınarak analizler gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik sayımların yapılması amacıyla De Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Mikrobiyolojik ekimler için dilüsyonların hazırlanmasında % 0.1 (w/v) pepton içeren serum fizyolojik (% 0.85 (w/v) NaCl)(PSF çözeltisi) kullanılmıştır.

##### 3.1.3 Diğer kimyasallar ve çözeltiler

Çalışmada enkapsül üretimi için kaplama materyali olarak maltodekstrin (DE:20, Sigma, USA) ve inülin (Sigma, USA) kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında kullanılan diğer kimyasallar; kalsiyum klorür dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), potasyum klorür (KCl), sodyum klorür (NaCl), potasyum fosfat mono bazik ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), musin, pepsin, pankreatin, sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), fosfat tampon tuzu (Phosphate buffered saline, PBS), sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), fenolftalein, asetonitril, aseton, hegzan, etanol, metanol, bütillendirilmiş hidroksi tolüen (BHT), potasyum peroksisülfat ( $\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ), gallik asit, Folin–Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), 2, 2-Diphenyl-1-pikryl-hidrozyll (DPPH), 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ve ( $\pm$ )-6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Troloks), Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) firmasından temin edilmiştir.

### **3.1.4 Kullanılan alet, donanım ve cihazlar**

Çoklu ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (DAIHAN SMSH-6 Scientific Co., Kore), homojenizatör (WiseTis HG-15A; Daihan Scientific, Kore), Shimadzu RP-HPLC sistemi (Shimadzu Corp., Model LC 20AD prominence, Kyoto, Japonya), UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu model UV-1700, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya), vorteks karıştırıcı, soğutuculu santrifüj cihazı (SL16R Centrifuge Series, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA), pH metre (Orion Star A111, Thermo Scientific, USA), dijital refraktometre (PTR 300 model, Index Instruments., Cambridgeshire, UK), kromametre (Konica Minolta, model CR-5, Osaka, Japonya), su aktivitesi tayin cihazı (Labswift-aw, Novasina, İsviçre), BUCHI Mini Spray Dryer B-290 (Buchi Labortechnik AG, Flawil, İsviçre) püskürterek kurutucu, otomatik pipet seti, etüv, inkübatör ve tartı bu tez kapsamında laboratuvarında kullanılan cihaz ve ekipmanlardır.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Alıç meyvesinde yapılan analizler**

#### **3.2.1.1 Pomolojik özellikler**

Alıç meyvesinin büyüklük ve ağırlık ölçümlerini içeren pomolojik özellikleri sırasıyla dijital mikrometre ve analitik terazi kullanılarak belirlenmiştir.

#### **3.2.1.2 Fizikokimyasal analizler**

Dondurulmuş alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesi çözündürüldükten sonra etli meyve kısmı homojenize edilerek püre haline getirilmiştir. Elde edilen püre doğrudan

su aktivitesi, toplam kuru madde, kül ve renk analizlerinde kullanılmıştır. Homojen püreden 25 g alınarak balon jøjeye tartılmış ve sonra hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra filtre edilmiştir. Bu filtrat ise toplam asitlik, pH ve suda çözünen kuru madde (Briks, °Bx) analizlerinde kullanılmıştır.

#### **3.2.1.2.1 Toplam asitlik**

Elde edilen filtrattan balon jøjeye 25 mL alınmış olup hacim 50 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Daha sonra 2-3 damla % 1'lik fenolftalein çözeltisi (% 95'lik etanol ile hazırlanmış olan) ilave edilmiş olup 0.1 N NaOH (F:0.9569) ile titre edilmiş ve sonuç g malik asit/100 g yaş ağırlık (YA) olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2005).

#### **3.2.1.2.2 pH**

pH, AOAC (2005) tarafından ifade edilen standart yöntem kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2005). Bir beher içerisine elde edilen filtrattan 50 mL alındıktan sonra pH metrenin elektrodu örneğin içerisine daldırılmıştır. Gösterge değeri sabitlenene kadar beklendikten sonra pH belirlenmesi yapılmıştır.

#### **3.2.1.2.3 Suda çözünen kuru madde miktarı**

Analiz sırasında dijital refraktometre kullanılmış olup kalibrasyonu saf su ile sağlanmış ve ölçümler 20 °C'de yapılmıştır. Dijital refraktometrenin haznesine hazırlanmış olan filtrattan alınmış ve cihazın örnek kuyusuna damlatılmak suretiyle işlem gerçekleştirilmiş olup sonuç °Bx olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.1.2.4 Maturasyon indeksi**

Maturasyon indeksi, Valero ve diğ. (2006) tarafından ifade edilen °Bx değerinin toplam asitliğe oranı ile hesaplanmıştır (Valero ve diğ, 2006).

#### **3.2.1.2.5 Renk**

Hunter (1958)'ın belirttiği yöntemle göre, renk indisleri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), Chroma ve Hue açısı ( $h^\circ$ ) olarak ifade edilen yüzey rengi, D-65 aydınlatıcılı 3 mm petri kabı ve 10° açıya ayarlanmış gözlemcili bir kromametre (Konica Minolta, model CR-5, Osaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür (Hunter, 1958).  $L^*$  değeri siyah (0) ile beyaz (100) arasında değişen numune parlaklığını,  $a^*$  değeri kırmızı ile yeşil arasında değişen rengi ve  $b^*$  değeri

ise sarıdan maviye değişen rengi temsil etmektedir. Tüm ölçümler, homojen meyve püresi dolu petri kabının merkezinde ve çevresinde en az üç noktanın ortalaması olarak alınmıştır. Edinilen değerlerin ortalamaları alınarak sonuçlar verilmiştir.

#### **3.2.1.2.6 Su aktivitesi**

Püre haline getirilmiş meyveler su aktivitesi ölçüm kaplarına yerleştirildikten sonra su aktivitesi ölçüm cihazı (Labswift-aw, Novasina, İsviçre) kullanılarak işlem gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.1.2.7 Toplam kuru madde içeriği**

Homojen haldeki alıç meyvelerinin toplam kuru madde içeriğinin belirlenmesinde örnekler sabit ağırlığa gelinceye kadar vakumlu fırın (70 °C, 0.07–0.08 MPa) kullanılmış olup, sonuç gravimetrik hesaplama ile % olarak verilmiştir (İsmail ve Gökçe-Kocabay, 2022).

#### **3.2.1.2.8 Kül içeriği**

Kül içeriğinin belirlenmesi için porselen krozelerin etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulması sağlanmıştır. Ardından krozeler desikatörde soğutulmuş ve darası alınmıştır. Darası alınmış krozelere 3 g homojen alıç püresi alınmış ve daha sonra örnekler 550 °C'deki kül fırınında 6-8 saat süre ile açık gri-beyaz arası renk alana kadar yakılmıştır. Bu sıcaklıkta organik maddelerin tamamının yanması sağlanmıştır. Sonuç gravimetrik hesaplama ile % olarak verilmiştir

#### **3.2.1.3 Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu**

Analizden önce –18 °C'de muhafaza edilmiş olan meyve çözüldürülmüş, çekirdekleri çıkarılmış ve etli kısmı homojen bir püre haline getirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi, Karabulut ve diğ. (2018) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemi Şekil 3.2'de gösterilen akış diyagramına göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 50 mL hacimli polipropilen santrifüj tüpüne 10 g meyve püresi tartıldıktan sonra 35 mL ekstraksiyon çözeltisi (hidroklorik asit/metanol/su, 1:80:19, v/v/v) ilave edilmiş ve homojenizatör ile 2700 rpm'de 5 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası örnek ultrasonik su banyosunda 20 °C'nin altında 20 dk bekletilmiştir. Ardından bu karışım 6 dk için 4 °C' de 5500 rpm'de santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant kısım 100 mL hacimli balon jöje içine alınmıştır. Üst üste

gerçekleştirilen 4 ekstraksiyon işlemi sonrası bütün ekstraktlar bir balon jodede toplanmıştır.



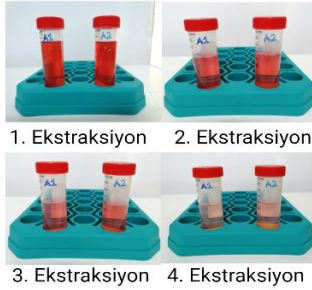
Dondurulmuş aliç meyvesi oda sıcaklığında çözündürülmüş ve homojen püre haline getirilmiştir. Ardından fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir.



**1. İşlem**  
10 g homojen püre 35 mL ekstraksiyon çözeltisi ile 5 dk homojenize edilmiş ve ultrasonik su banyosunda 20 dk sonike edilmiştir.



**3. İşlem**  
Art arda dört ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.



1. Ekstraksiyon 2. Ekstraksiyon  
3. Ekstraksiyon 4. Ekstraksiyon



**2. İşlem**  
Bu karışım 6 dk için 4°C de 5500 rpm'de santrifüj edilmiştir.



**4. İşlem**  
Süpernatantlar balon jodede toplanmıştır.

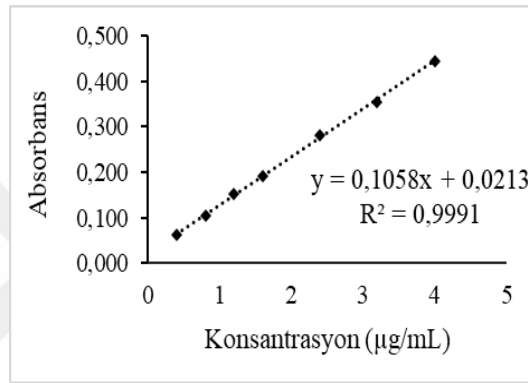
**Şekil 3.2 :** Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu.

Balon jopenin hacmi ekstraksiyon çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen bu ekstrakt 0.45 µm naylon filtre (Lubitech, Songjiang, Çin)'den geçirilmiştir. Hazırlanan ekstrakt, toplam fenolik içerik, antioksidan aktivite analizleri (DPPH, ABTS ve FRAP) ve HPLC sisteminde fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılmıştır.

#### 3.2.1.4 Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi

Kraujalyté ve diğ. (2013) tarafından oluşturulan yöntem modifiye edilerek toplam fenolik içerik belirlenmiştir. Buna göre, hacmi 100 mL olan meyve ekstraktından deney tüpüne 100 µL alınmış, üzerine 400 µL saf su ve 1 mL 0.2 N Folin–Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş ve 4 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüpe 1 mL % 7'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiştir. Hazırlanan karışım oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 90 dk inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans okuması UV-Vis spektrofotometre kullanılarak 725 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Gallik asit standardının bilinen konsantrasyonları saf su kullanılarak deney tüplerinde hazırlanmıştır. Bu hazırlanan konsantrasyonlardan 100'er µL olacak şekilde farklı deney tüplerine alınarak üzerlerine sırasıyla 400 µL saf su, 1 mL 0.2 N Folin–Ciocalteu reaktifi ve 1 mL % 7'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan deney tüpleri oda sıcaklığında, karanlıkta 90 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans okuması örnekler seyreltikten sonra spektrofotometre ile 725 nm'de gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.3'de gösterilmiş olan gallik asit ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi ile dilüsyon faktörü dikkate alınarak hesaplamalar yapılmış ve sonuç gram kuru ağırlık (KA) başına mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.3 : Gallik asit eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği.

### 3.2.1.5 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde üç farklı yöntem kullanılmıştır.

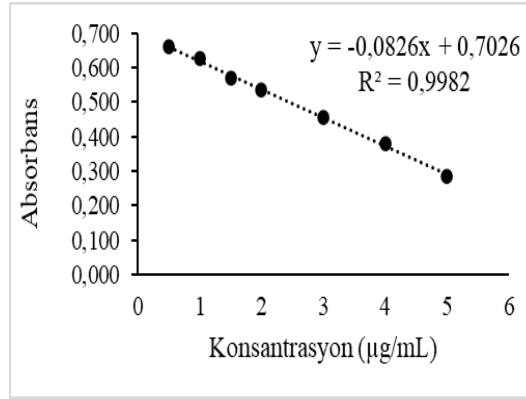
#### 3.2.1.5.1 DPPH

Brand-Williams ve diğ. (2005) belirttiği yöntemde bazı değişiklikler yapılarak meyve ekstraktlarının DPPH radikal süpürme aktivitesi belirlenmiştir.

**DPPH çözeltisinin hazırlanması:** 100 mL hacimli cam şişeye bir miktar (5-10 mg) DPPH tartılmış ve üzerine 100 mL % 70'lik metanol ilave edilip manyetik karıştırıcıda 400 rpm'de 30 dk karıştırılmıştır. Kullanılmadan önce DPPH'nin absorbansı spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda 0.700-0.750 değerleri arasında olacak şekilde % 70'lik metanol kullanılarak ayarlanmıştır.

Troloks standardının bilinen konsantrasyonları % 70'lik metanol kullanılarak deney tüplerine hazırlanmıştır. Bu hazırlanan konsantrasyonlardan 0.1 mL farklı deney tüplerine alınarak üzerlerine hazırlanmış olan DPPH çözeltisinden 1.9 mL eklenmiştir. Hazırlanan

deney tüpleri oda sıcaklığında, karanlıkta 60 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans okuması spektrofotometre ile 517 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ile kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : DPPH yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği.

Hazırlanan 100 mL hacmindeki meyve ekstraktından deney tüpüne 0.1 mL alınmış ve üzerine hazırlanmış olan DPPH çözeltisinden 1.9 mL ilave edilmiş ve vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Deney tüpleri oda sıcaklığında, karanlıkta 60 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans okuması spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Troloks ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi ile dilüsyon faktörü dikkate alınarak hesaplamalar yapılmış ve sonuç kilogram KA başına mmol troloks eşdeğeri (TE) olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.1.5.2 ABTS

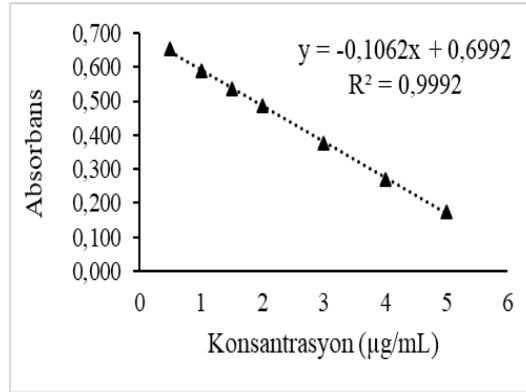
Re ve diğ. (1999) belirttiği yöntemde bazı değişiklikler yapılarak meyve ekstraktının ABTS ile antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir.

**ABTS çözeltisinin hazırlanması:** ABTS stok çözeltisi (7.0 mM) ile 2.45 mM (son konsantrasyon) potasyum per sülfat ( $K_2O_8S_2$ ) çözeltisinin karanlık ortamda 16 saat süren reaksiyonu sonucu ABTS radikal katyon ( $ABTS^+$ ) çözeltisi elde edilmiştir (Re ve diğ. 1999). Süre sonunda elde edilen  $ABTS^+$  çözeltisi etanol kullanılarak seyreltilmiştir.  $ABTS^+$  çözeltisinin kullanılmadan önce spektrofotometrede absorbansı 734 nm dalga boyunda  $0.700 \pm 0.020$  olacak şekilde etanol ile ayarlanmıştır.

Troloks standardının bilinen konsantrasyonları etanol kullanılarak deney tüplerine hazırlanmıştır. Bu hazırlanan konsantrasyonlardan farklı deney tüplerine 0.2 mL alınmış ve üzerlerine hazırlanmış olan  $ABTS^+$  çözeltisinden 3.8 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan deney tüpleri oda sıcaklığında, karanlıkta 60 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans



okuması spektrofotometre ile 734 nm dalga boyunda yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5 :** ABTS yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği.

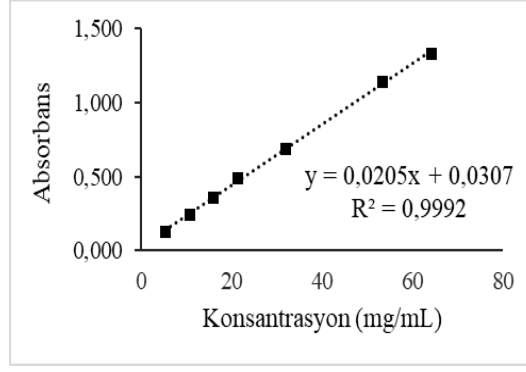
Hazırlanan 100 mL hacmindeki meyve ekstraktından deney tüplerine 0.2 mL alınmış üzerine hazırlanmış olan ABTS<sup>+</sup> çözeltisinden 3.8 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan deney tüpleri oda sıcaklığında, karanlıkta 60 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbans okuması spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisi sonucu edinilen denklemde dilüsyon faktörü dikkate alınarak örnek absorbansları hesaplanmış ve sonuç mmol TE/kg KA olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.1.5.3 FRAP (Ferric reducing power)

Demir indirgeme gücü (FRAP) belirlenirken Viuda-Martos ve diğ. (2010) tarafından belirtilen potasyum ferrisiyanür-demir klorür (FeCl<sub>3</sub>) yöntemi kullanılmıştır. Deney tüpüne 1 mL alıç meyve ekstraktı, 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.00) ve 2.5 mL potasyum ferrisiyanür (% 1) ilave edilmiştir. Karışımlar 50 °C’de 20 dk inkübe edilmiş ve sonrasında deney tüpüne 2.5 mL trikloroasetik asit (% 10) ilave edilmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır.

Karışımdan 2.5 mL farklı bir deney tüpüne alınmış ve üzerine 2.5 mL saf su ve 0.5 mL % 1 FeCl<sub>3</sub> eklenmiştir. Çözelti 30 dk inkübasyona bırakılmış ve UV-Vis spektrofotometrede 700 nm’deki absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

FRAP türevlendirmesi için troloks kullanılmış ve Şekil 3.6’da verilmiş olan kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Örneğin demir indirgeme gücü, dilüsyon faktörü dikkate alınarak hesaplanmış ve sonuç mmol TE/100 g KA cinsinden ifade edilmiştir.



**Şekil 3.6 :** FRAP yöntemi için troloks eşdeğerine ait kalibrasyon grafiği.

### 3.2.1.6 HPLC analizleri

Alıç meyvesinin  $\beta$ -karoten, A vitamini, organik asit, şeker ve fenolik bileşik içerikleri HPLC sistemi (Shimadzu Corp., Model LC 20AD prominence, Kyoto, Japonya) kullanılarak tespit edilmiştir.

#### 3.2.1.6.1 $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriğinin belirlenmesi

Sadler ve diğ. (1990)'nin rapor ettiği yöntem modifiye edilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Dondurulmuş alıç meyvesi çözündürüldükten sonra çekirdeksiz etli kısım püre haline getirilmiş ve 50 mL hacimli polipropilen santrifüj tüpüne bu püreden 5 g tartılmıştır. Ekstraksiyon çözeltisi olarak 0.1 g BHT içeren hekzan:aseton:etanol (50:25:25, v/v/v) çözeltisi kullanılmıştır. Pürenin bulunduğu santrifüj tüpüne 20 mL ekstraksiyon çözeltisi eklenmiş ve homojenizatör ile 2700 rpm'de 5 dk süre ile homojenize edilmiştir. Daha sonra bu karışım 5 dk için 4 °C'de 5580 × g'de santrifüj edildikten sonra süpernatant kısım 25 mL hacimli balon jöjeye alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi 4 tekrarlar gerçekleştirilmiştir. Balon jöje hekzan ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen ekstrakt 0.45  $\mu$ m'lik politetrafloroetilen (PTFE) filtre (Lubitech, Songjiang, Çin) ile filtre edildikten sonra amber renkli cam vialde alınmıştır. Vialde bulunan ekstraktın içindeki hekzan, azot gazı altında uzaklaştırılmıştır. Vialdeki kalıntılar 1 mL % 0.1 BHT içeren tetrahidrofur:metanol (1:9, v/v) çözeltisi ilave edilerek çözülmüş ve vialdeki karışım 0.45  $\mu$ m'lik PTFE filtreden geçirildikten sonra amber renkli cam vialde alınmıştır. Bu hazırlanmış olan ekstrakt vialleri, HPLC cihazında  $\beta$ -karoten ve A vitamini analizi gerçekleştirilene kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

**$\beta$ -karoten standartlarının hazırlanması:** Ana stok (1 mg/mL),  $\beta$ -karoten standardına tetrahidrofur:metanol (1:9, v/v) çözeltisi ilave edilerek hazırlanmıştır. Bu ana stoktan seyreltmeler gerçekleştirilerek farklı konsantrasyonlarda  $\beta$ -karoten standartları

oluşturulmuştur. Elde edilen standartlar 0.45 µm'lik PTFE filtreden geçirildikten sonra amber renkli cam vialer alınmış olup analiz gerçekleştirilene dek -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

**A vitamini standartlarının hazırlanması:** Ana stok (1 mg/mL), A vitamini standardına metanol ilave edilerek hazırlanmıştır. Bu ana stoktan seyreltmeler gerçekleştirildikten sonra farklı konsantrasyonlarda A vitamini standartları hazırlanmıştır. Elde edilen standartlar 0.45 µm'lik nylon filtreden geçirildikten sonra amber renkli cam vialer alınmış olup analiz gerçekleştirilinceye kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

HPLC cihazında β-karoten ve A vitamini tespiti sırasıyla 450 nm ve 325 nm'de gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde enjektör hacmi 20 µL, fırın sıcaklığı 32 °C'dir. İzokratik akışta analiz gerçekleştirilmiş olup solvent akış hızı 1 mL/dk iken mobil faz metanol:aseton (70:30, v/v)'dur. Kolon olarak ODS-2 kolon (250 × 4.6 mm, 5 mm; GL Sciences Inc., Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. Sonuç mg/kg KA olarak ifade edilmiştir.

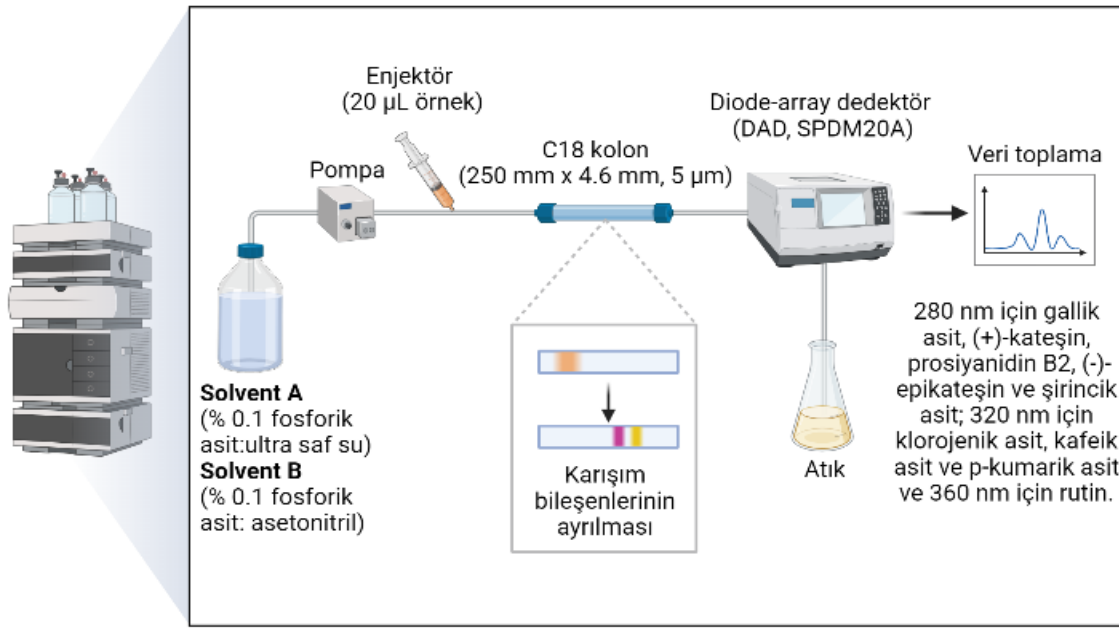
#### **3.2.1.6.2 Organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesi**

Organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesi Demir ve diğ. (2014) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Dondurulmuş alıç meyvesi çözündürüldükten sonra çekirdeksiz etli kısmı püre haline getirilmiş ve 50 mL hacimli polipropilen santrifüj tüpüne bu püreden 5 g tartılmıştır. Püre içeren santrifüj tüpüne 20 mL ultra saf su (Millipore, Bedford, MA, ABD) ilave edildikten sonra homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Homojenizasyon sonrası 1.5 mL hacimli polipropilen mikrosantrifüj tüpüne 1 g alınan örnekler 4 °C'de 7000 × g'de 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant kısım 0.45 µm'lik naylon filtreden geçirilmiş, amber renkli cam vialer alınmış ve HPLC cihazında analiz gerçekleştirilene dek -18 °C'de muhafaza edilmiştir. HPLC sisteminde organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesi amacıyla dalga boyu olarak 210 nm tercih edilmiştir. Sonuç g/100 g KA olarak değerlendirilmiştir.

#### **3.2.1.6.3 Fenolik bileşiklerin belirlenmesi**

Örnekler, HPLC'de fenolik bileşiklerin belirlenmesi için Bölüm 3.2.1.3'de bahsedilen ekstraksiyon işlemi kullanılarak hazırlanmış olup amber renkli HPLC viallerine alınmıştır. Karabulut ve diğ. (2018)'nin belirttiği yöntemine göre fenolik bileşiklerin tespiti DAD dedektör (SPD-M20A) ile donatılmış HPLC sistemi (Shimadzu Corp., Model LC 20AD prominence, Kyoto, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde gerçekleştirilen

analiz koşulları Şekil 3.7’de gösterildiği gibi olup fenolik bileşiklerin seperasyonu ters fazlı (reverse phase, RP) C18 kolonda (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) sağlanmıştır. Mobil faz olarak fosforik asit:ultra saf su (0.1:99.9, v/v – solvent A) ve fosforik asit:asetonitril (0.1:99.9, v/v – solvent B) kullanılmış olup, mobil fazın akış hızı 0.8 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Dedektörde fenolik bileşik tespiti 280, 320 ve 360 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan standartlar 280 nm için gallik asit, (+)-kateşin, prosiyanidin B2, (-)-epikateşin, şirincik asit; 320 nm için klorojenik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit; 360 nm için rutindir. Fenolik bileşikler ayrı ayrı HPLC cihazına verilerek alıkonma süreleri (retention time) tespit edilmiştir. Daha sonra fenolik bileşik standartlarından oluşan 5 farklı konsantrasyona sahip standart karışımları hazırlanmıştır. Bu karışımların HPLC cihazına verilmesi neticesinde ilgili standartların 5 farklı noktadaki konsantrasyonlarıyla hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisi ile elde edilen standart sonuçları, kilogram KA başına mg söz konusu fenolik bileşik olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.7 : HPLC sistemi ve analiz koşulları.

### 3.2.2 Alıç suyunun hazırlanması

Dondurulmuş alıç püresi 4 °C’de çözündürülmüş ve saf su ile °Bx değeri 5.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından homojenizatör (WiseTis HG-15A, Daihan Scientific, Kore) ile 2700 rpm’de 5 dk homojenize edilmiştir. Homojen alıç suyu 4 °C’de 3000 × g’de 10 dk santrifüj edilmiş ve ardından süpernatant kısım su banyosunda 70 °C’de 15 dk süre

ile pastörize edilmiştir. Pastörize alıç suyunun enkapsülasyon öncesinde soğuması sağlanmıştır.

### **3.2.2.1 Alıç suyunda toplam fenolik içeriğin belirlenmesi**

Bölüm 3.2.2’de ifade edildiği gibi elde edilen alıç suyu örneği seyreltilmiş (alıç suyu:ultra saf su, 1:2, v/v) ve daha sonra 5 dk süre ile 4 °C’de 3000 × g’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant kısım 0.45 µm naylon filtre ile filtre edilmiştir. Bu hazırlanan filtrat, alıç suyunda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Bölüm 3.2.1.4’de belirtildiği gibi toplam fenolik içerik belirleme gerçekleştirilmiş olup sonuç mg GAE/g KA olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.2.2 Alıç suyunda antioksidan aktivitenin belirlenmesi**

Alıç suyunda antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri kullanılmıştır.

#### **3.2.2.2.1 DPPH**

Bölüm 3.2.1.5.1’de belirtilmiş olan DPPH yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/kg KA olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.2.2.2 ABTS**

Bölüm 3.2.1.5.2’de ifade edilmiş olan ABTS yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/kg KA olarak belirtilmiştir.

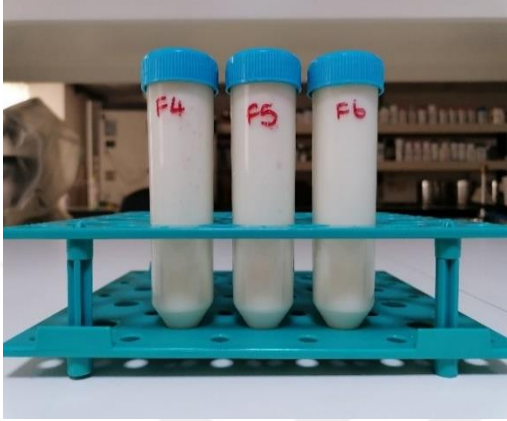
#### **3.2.2.2.3 FRAP**

Bölüm 3.2.1.5.3’de verilmiş olan FRAP yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/100 g YA olarak gösterilmiştir.

### **3.2.3 Probiyotik bakteri aktifleştirme**

Kingwatee ve diğ. (2015)’nin belirttiği yöntem modifiye edilerek üretim aktifleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 50 mL hacimli steril polipropilen santrifüj tüpüne liyofilize *L. acidophilus* probiyotik kültüründen 0.1 g alınmış ve üzerine 30 mL steril soya sütü ilave edilmiştir. Kavanoz içerisine yerleştirilmiş Anaerocult® C sistemi (Merck, Münih, Almanya) kullanılarak anaerobik koşullar oluşturulmuş ve probiyotik

kültür örneklerini içeren santrifüj tüpü 38 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında tüp vorteks ile iyice karıştırılmış ve homojen karışımdan bir başka 50 mL hacimli steril polipropilen santrifüj tüpüne bek alevi yanında 2 mL alınmış ve santrifüj tüpü steril soya sütü ile tamamen doldurulmuştur (Şekil 3.8). Aktifleştirme işlemi 4 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup tüpler anaerobik koşullarda 38 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.9).



**Şekil 3.8 :** Liyofilize *L. acidophilus* probiyotik kültürünün soya sütüne ilavesi.



**Şekil 3.9 :** 38 °C’de 48 saat inkübasyon.

### 3.2.4 Probiyotik bakteri kitle üretimi

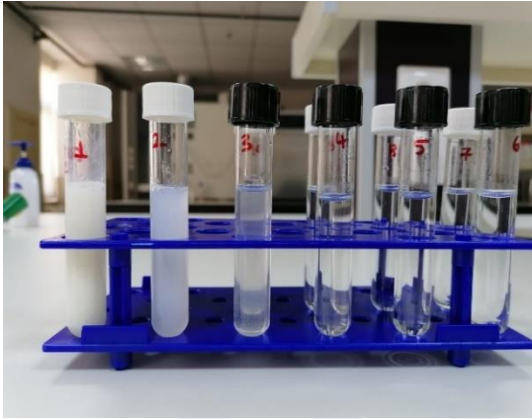
Aktifleştirme için inkübasyonda bulunan probiyotik bakteri içeren santrifüj tüpleri inkübasyon sonunda 4 °C, 5500 rpm’de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde oluşan süpernatant kısım bek alevi yanında uzaklaştırılmış ve elde edilen pelletler üzerine hacmi 50 mL’ye tamamlayacak şekilde besiyeri olarak steril soya sütü ilave edilmiştir. Santrifüj tüpleri vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra anaerobik koşullarda 38 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda aynı işlem akışı uygulanarak toplamda 5 defa olmak üzere inkübasyon işlemi tekrarlanmış ve kitle üretimi gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.5 Probiyotik içeren izotonik çözeltinin hazırlanması

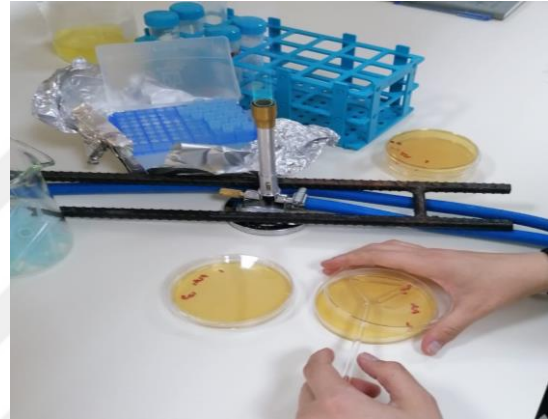
Beşinci inkübasyon sonucunda kitle üretimi gerçekleştirilmiş probiyotik bakteri içeren 50 mL hacimli santrifüj tüpleri 4 °C’de 5500 rpm’de, 20 dk süre ile santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj sonucu tüplerdeki süpernatant kısım uzaklaştırılmış ve pellet kısım PSF çözeltisi ile son konsantrasyonu  $10^{10}$  kob/mL olacak şekilde seyreltilerek hazırlanmıştır.

### 3.2.6 Dilüsyon hazırlama ve ekim işlemi

Dilüsyonların hazırlanması ve hazırlanan dilüsyonların ekim işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kısaca, *L. acidophilus* içeren izotonik çözeltisinin 1 mL'si steril cam deney tüpüne alınarak 9 mL PSF çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlanmış ve 3 paralel olacak şekilde dilüsyon hazırlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Seri dilüsyonlar  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  ve  $10^{-8}$  dilüsyon oranlarında hazırlanmıştır (Şekil 3.10). Örnekler,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  dilüsyon faktörlerine sahip çözeltilerden alınarak steril MRS agar içeren petri kaplarına yayma plaka yöntemi ile ekim işlemi uygulanmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.10 : Seri dilüsyonların hazırlanması.

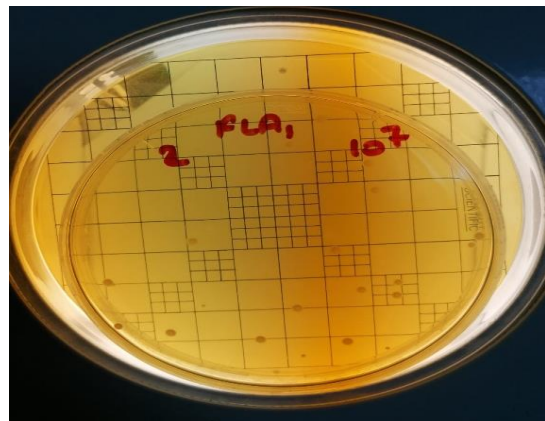


Şekil 3.11: Yayma plaka yöntemi ile ekim işlemi.

Ekim işlemi sonrası petri kapları anaerobik koşullarda  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.12). Bakteri hücre pelleti, PSF çözeltisi ile bakteri konsantrasyonu  $10^{10}$  kob/mL olacak şekilde seyreltilmiştir. *L. acidophilus*'un inkübasyon sonrası koloni sayma cihazındaki görüntüsü Şekil 3.13'de verilmiştir.



Şekil 3.12 : Ekim işlemi sonrası anaerobik koşullarda inkübasyon.



Şekil 3.13 : *L. acidophilus*'un inkübasyon sonrası koloni sayma cihazındaki görüntüsü.

### 3.2.7 Kaplama malzemelerinin hazırlanması

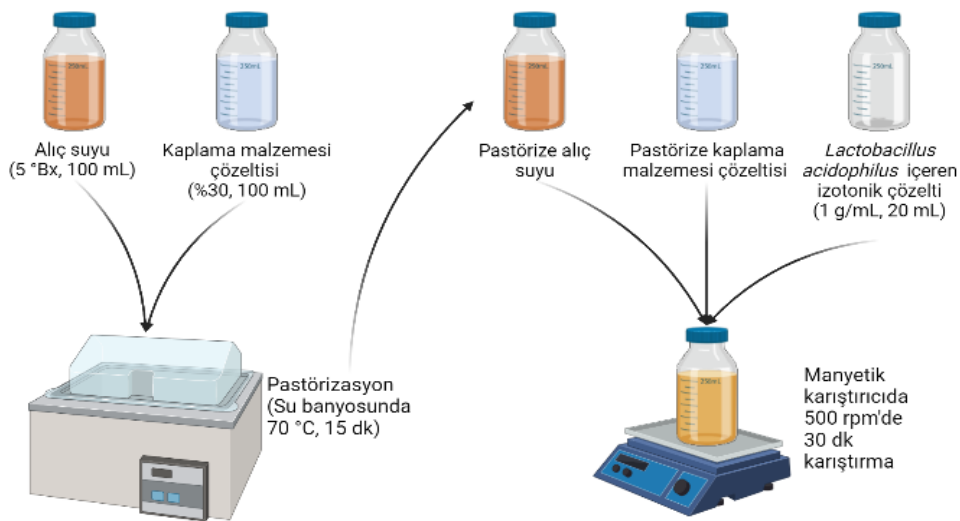
Co-enkapsülasyonda kullanılacak olan kaplama malzemeleri maltodekstrin (MD) ve inülin (IN)'dir. Çizelge 3.1'de gösterildiği gibi farklı kaplama malzemesi oranları kullanılarak 3 farklı formülasyon oluşturulmuş ve bu formülasyonlar baz alınarak saf su ile çözeltiler hazırlanmıştır. Kaplama malzemelerinin daha iyi bir şekilde çözünmesi için maltodekstrin ve inülin manyetik karıştırıcıda 300 rpm'de sırasıyla 35 °C ve 80 °C'de karıştırılmıştır (Lourenço ve diğ, 2020; Zorzenon ve diğ, 2020). Tam olarak çözüldükten sonra hazırlanan çözeltiler enkapsülasyon öncesinde iyi bir polimerleşmenin gerçekleşmesi amacıyla +4 °C'de 24 saat bekletilmiştir (Noghabi, 2020). Belirtilen süre sonunda kaplama malzemesi çözeltisi su banyosunda 70 °C'de 15 dk için pastörize edilmiş ve enkapsülasyon öncesinde soğuması sağlanmıştır.

**Çizelge 3.1 :** Formülasyonlara göre kaplama malzemesi oranları.

Formülasyon	Kaplama malzemesi oranları (%)	
	Maltodekstrin (MD)	İnülin (IN)
F1	30	0
F2	20	10
F3	15	15

### 3.2.8 Püskürterek kurutma işlemi ile co-enkapsülasyon

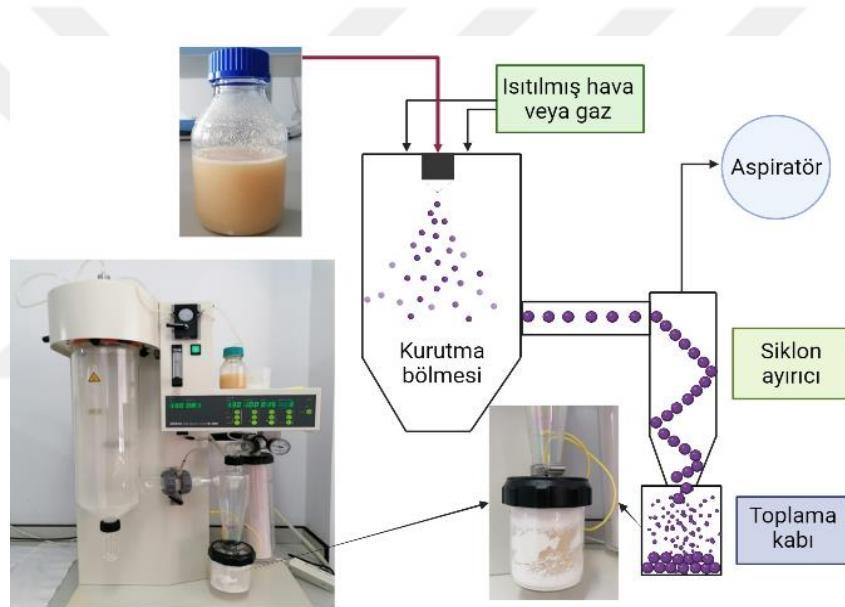
Co-enkapsülasyon işlemi, Colín-Cruz ve diğ. (2019) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Enkapsülasyon öncesi son çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan akış diyagramı Şekil 3.14'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.14 :** Enkapsülasyon öncesi son çözeltilerin hazırlanması.



Şekil 3.14'de görüldüğü gibi, pastörize alıç suyu ve pastörize kaplama malzemesi çözeltileri homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmış, daha sonra bu karışıma probiyotik içeren izotonik çözelti ilave edilmiş ve 500 rpm'de 30 dk daha karıştırma işlemine devam edilmiştir. Enkapsülasyon öncesi hazırlanan son çözelti, 100 mL pastörize alıç suyu, 100 mL pastörize kaplama malzemesi çözeltileri (F1, F2 ve F3) ve 20 mL probiyotik içeren izotonik çözülden oluşmaktadır. Hazırlanan bu çözelti püskürterek kurutucu için belirtilen koşullarda Şekil 3.15'de gösterildiği gibi püskürterek kurutucuya verilerek co-enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Enkapsülasyon, Buchi B-290 model mini püskürterek kurutucu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deney için kurutma koşulları; sıcak hava giriş sıcaklığı;  $130 \pm 5$  °C, sıcak hava çıkış sıcaklığı;  $80 \pm 5$  °C, % 15 pompa hızı ve % 100 aspirasyon olacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 3.15 : Püskürterek kurutucu ile co-enkapsülasyon işlemi ve enkapsül eldesi.

### 3.2.9 Enkapsülasyon verimi

Püskürterek kurutma işlemi sonucunda verim, Saavedra-Leos ve diğ. (2019) tarafından belirtilen formüle göre püskürterek kurutma işlemi sonucunda beklenen enkapsül ağırlığı ile elde edilen son enkapsül ağırlığı dikkate alınarak aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{Verim (\%)} = \frac{A_K}{A_B} \times 100$$

$A_K$ : Kurutma işlemi sonrası toplanan kuru toz enkapsül ağırlığı

$A_B$ : Kurutma işlemi öncesi toplam çözültideki toplam katı içeriğine bağlı olarak beklenen toz enkapsül ağırlığı

### 3.2.10 Enkapsülasyon etkinliği

Enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesi amacıyla Maciel ve diğ. (2014) yöntemleri modifiye edilerek uygulanmıştır. *L. acidophilus*'un canlılığı, inokülasyondan sonra hem enkapsülasyon için hazırlanan son çözelti içindeki hem de toz enkapsüldeki canlı hücreler sayılarak belirlenmiştir. Kısaca, enkapsülasyon için hazırlanan son çözeltilinin bir mililitresi, 9 mL PSF çözeltisi içinde seyreltilmiştir. Toz enkapsül içinde var olan probiyotiğin canlılığını değerlendirmek için 1 g toz enkapsül, 9 mL PSF çözeltisi içinde yeniden süspanse edilmiştir. Vorteks ile 1 dk karıştırılmış ve toz enkapsülün yeniden çözünmesi için oda sıcaklığında (~25 °C) 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin PSF çözeltisi içinde seri dilüsyonları hazırlanmış, ardından MRS agar üzerine yayma plaka yöntemi ile ekim işlemi gerçekleştirilmif ve petriler anaerobik koşullar altında 38 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Farklı formülasyonlar (F1, F2 ve F3)'a göre hazırlanmış olan bütün enkapsüllerde enkapsülasyon etkinliği belirlenmiştir.

Yüzde enkapsülasyon etkinliği (% EE)'nin belirlenmesinde aşağıda ifade edilen denklem kullanılmıştır (Colín-Cruz ve diğ, 2019).

$$\% EE = \frac{N}{N_0} \times 100$$

*N*: Püskürterek kurutma işlemi sonrası elde edilen enkapsüldeki canlı koloni sayısı (kob/mL)

*N*<sub>0</sub>: Püskürterek kurutma işlemi öncesi hazırlanmış olan enkapsülasyon çözeltisindeki canlı koloni sayısı (kob/mL)

### 3.2.11 Enkapsüllerde fiziksel analizler

#### 3.2.11.1 Yoğunluk

Yoğunluk analizi için 1 g enkapsül, 25 mL hacimli mezüre alınmış ve toz enkapsül kütesinin mezürde kapladığı hacme bölünmesiyle yoğunluk hesaplanmıştır.

$$\text{Yoğunluk} = \frac{\text{Enkapsül ağırlığı}}{\text{Enkapsülün kapladığı hacim}}$$

#### 3.2.11.2 Çözünürlük

Çözünürlük, Goula ve Adamopoulos (2008) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmifdir. 100 mL hacimli beher içersine 2 g enkapsül alınmış ve üzerine 25 °C'de 50 mL saf su ilave edilmiştir. İçersine magnet atıldıktan sonra 400

rpm'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Tamamen çözündüğü süre (rehidrasyon süresi) saniye olarak kaydedilmiştir.

Çözünen enkapsül çözeltisi daha sonra 50 mL hacimli polipropilen santrifüj tüpüne alınmış ve  $3000 \times g$ 'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar darası alınan petrilere yayılmış ve etüvde  $105 \pm 2$  °C'de kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Aşağıda belirtilen formüle göre çözünürlük hesabı gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Çözünürlük} = \frac{\text{Kurutma sonrası süpernatant ağırlığı}}{\text{Örnek ağırlığı}} \times 100$$

### 3.2.11.3 Renk

Hunter (1958) tarafından açıklanan ve  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Chroma ve hue açısı ( $h^\circ$ ) olarak ifade edilen yüzey rengi, enkapsüller 3 mm yüksekliğinde bir petriye yayıldıktan sonra bir kromametre (Konica Minolta, Model CR-5, Osaka, Japonya) yardımıyla ölçülmüştür.

### 3.2.11.4 Nem içeriği

Enkapsüllerin nem içeriği AOAC (2005) tarafından belirtilen yöntem uygulanarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.11.5 Su aktivitesi

Enkapsüllerin su aktivitesi, dijital bir su aktivitesi cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

### 3.2.11.6 Taramalı elektron mikroskobu (Scanning electron microscopy, SEM)

Enkapsüllerin morfolojik yapısı Taramalı elektron mikroskobu (SEM, Leo EVO-40 VPX Carl ZeissSMT, Cambridge, UK) kullanılarak incelenmiştir. Enkapsül örnekleri altın-paladyum ile kaplanmış ve farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri elde edilmiştir.

### 3.2.11.7 Fourier dönüşümü infrared (FTIR) spektroskopisi

Kuru toz enkapsüllerin FTIR spektrumu, bir kristal elmas ATR elemanı ve bir Spectrum 10 Yazılımı (Perkin Elmer) ile donatılmış Perkin Elmer spektrometresi (Spectrum 100, Perkin Elmer, Waltham, MA, ABD) kullanılarak incelenmiştir. Öncelikle arka plan etkisini düzeltmek için boş hücrenin bir spektrumu ölçülmüştür. Ardından her bir örnek için (oda sıcaklığında)  $1 \text{ cm}^{-1}$  çözünürlükte  $650$  ila  $4000 \text{ cm}^{-1}$  aralığında toplanan üç tarama üzerinden gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.11.8 Camsı geçiş sıcaklığı (Glass-transition temperature, Tg)**

Enkapsüllerin camsı geçiş sıcaklığı (Tg), diferansiyel tarama kalorimetresi (Shimadzu, DSC 60, Japonya) kullanılarak değerlendirilmiştir. Toz enkapsüllerin su aktivitesi değerleri doymuş potasyum asetat kullanılarak 0.216 ila 0.225 aralığına ayarlanmıştır. Bir alüminyum tavaya  $5 \pm 1$  mg enkapsül yerleştirilmiş ve kapatılmıştır. Enkapsüllerin Tg'si, referans olarak boş tava kullanılarak 25-200 °C'lik bir sıcaklık aralığında 10 °C/dk hızında taranmıştır. Camsı geçiş değerleri, cam geçiş aralığının orta noktası olarak kabul edilmiştir.

### **3.2.12 Enkapsüllerde kimyasal analizler**

#### **3.2.12.1 Enkapsüllerden fenolik bileşik ekstraksiyonu**

Kingwatee ve diğ. (2015) tarafından belirtilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak enkapsüllerde bulunan fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir. Kısaca, 4 g enkapsül ve 10 mL saf su amber renkli 30 mL hacimli cam şişe içerisine alınmış ve manyetik karıştırıcı kullanılarak 150 rpm'de 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Süre sonunda 15 mL hacimli şişeye bu karışımdan 2 mL alınmış ve üzerine 8 mL % 100 etanol ilavesi gerçekleştirildikten sonra manyetik karıştırıcıda 260 rpm'de 25 dk karıştırılmıştır. Ardından bu karışım deney tüplerine alınmış ve  $2000 \times g$ 'de 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısımlar 0.45 µm naylon filtreden geçirildikten sonra bir deney tüpünde birleştirilmiştir. Elde edilen ekstrakt enkapsüllerin toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin (DPPH, ABTS ve FRAP) belirlenmesinde kullanılmıştır.

#### **3.2.12.2 Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi**

Bölüm 3.2.1.4'de belirtildiği gibi toplam fenolik içerik belirlemesi gerçekleştirilmiş olup sonuç mg GAE/g KA olarak ifade edilmiştir.

#### **3.2.12.3 Antioksidan aktivitelerin belirlenmesi**

Enkapsüllerde var olan antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla üç farklı yöntemden faydalanılmıştır.

##### **3.2.12.3.1 DPPH**

Bölüm 3.2.1.5.1'de belirtilmiş olan DPPH yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/kg KA olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.12.3.2 ABTS

Bölüm 3.2.1.5.2’de ifade edilmiş olan ABTS yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/kg KA olarak belirtilmiştir.

### 3.2.12.3.3 FRAP

Bölüm 3.2.1.5.3’de verilmiş olan FRAP yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiş olup sonuç mmol TE/g YA olarak gösterilmiştir.

### 3.2.13 *In vitro* gastrointestinal koşullarda yapılan analizler

*In vitro* gastrointestinal koşullarda gerçekleştirilen analizlerde en yüksek enkapsülasyon etkinliğinin tespit edildiği F3 formülasyonuna ait enkapsüller, aynı formülasyona göre hazırlanmış olan alıç suyu içermeyen enkapsüller (P3) ve bu enkapsüllerin enkapsülasyon öncesi çözeltileri (A3 ve S3) kullanılmıştır. Gerez ve diğ. (2012) ile Souza ve diğ. (2012) oluşturdukları yöntemler modifiye edilerek yapay gastrik ve intestinal ortamla hazırlanmıştır.

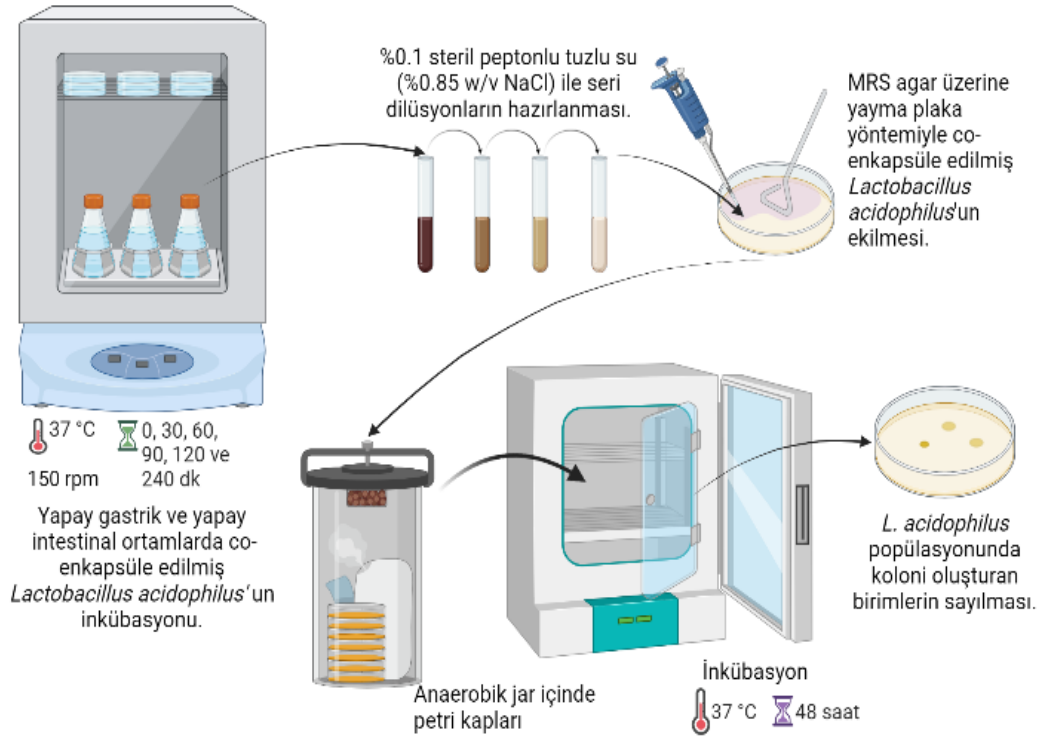
**Yapay gastrik ortam (YGO):** Kalsiyum klorür (0.11 g/L), potasyum klorür (1.12 g/L), sodyum klorür (2.0 g/L) ve potasyum fosfat monobazik (0.4 g/L) 121 °C’de 15 dk sterilizasyon yapılarak hazırlanmıştır. Kullanılmadan hemen önce musin (3.5 g/L) ve pepsin (0.26 g/L) ilave edilmiş ve 1 N HCl kullanılarak pH 2.0’a ayarlanmıştır.

**Yapay intestinal ortam (YIO):** Hazırlanmış olan yapay gastrik ortama son konsantrasyon 1.95 g/L olacak şekilde pankreatin ilave edilmiş ve ardından pH, 1 N NaHCO<sub>3</sub> ile 7.0’a ayarlanmıştır.

Kalita ve diğ. (2018) tarafından oluşturulan yöntemde bazı değişiklikler yapılarak *in vitro* gastrointestinal koşullarda *L. acidophilus* canlılığının belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Burada, enkapsülasyon işleminin *in vitro* gastrointestinal koşullarda *L. acidophilus* canlılığı üzerine etkisinin incelenmesi ve bununla birlikte alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülleri (P3)’ninde aynı koşullarda depolanması ile alıç suyunun canlılık üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

*In vitro* gastrointestinal koşullarda *L. acidophilus*’un canlılığının belirlemek için Şekil 3.16’da belirtilen analiz akış diyagramı kullanılmıştır. Kısaca, 50 mL hacimli steril polipropilen santrifüj tüplerine pH 3.0’a ayarlanmış 30 mL YGO alınmış ve üzerine 3 g toz enkapsül ilave edilmiştir. Tüpler, 37 °C’de 0, 30, 60, 90 ve 120 dk sürelerle 150 rpm’lik bir

çalkalama hızı ile çalkalamalı inkübatörde karıştırılmıştır. Steril koşullarda yapılmak üzere bu belirtilen sürelerde 1'er mL alınarak PSF çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmış ve MRS agar üzerine yayma plaka yöntemi ile ekim gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullarda 38 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.



**Şekil 3.16 :** *In vitro* gastrointestinal koşullarda canlılığın belirlenmesine ait analiz akış diyagramı.

120. dk'nın sonunda tüplere son konsantrasyon 1.95 g/L olacak şekilde pankreatin çözeltisi ilave edilmiş ve ardından pH, 1 N NaHCO<sub>3</sub> ile 7.0'a ayarlanmıştır. Tüpler tekrar 37 °C'de çalkalamalı inkübatörde 150 rpm'de 120 dk daha inkübe edilmiş ve süre sonunda 1 mL alınarak PSF çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmış ve MRS agara yayma plaka yöntemi ile ekim gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullarda 38 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar kob/mL olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.14 Elma suyunda stabilitenin belirlenmesi

#### 3.2.14.1 Elma suyu eldesi

Enkapsüllerin depolama sürecinde stabilitelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmış olan elma suyu, Malatya ilinin Doğanşehir ilçesinde yetiştirilen ve hasat edilen elmalar kullanılarak hazırlanmıştır. Meyve suyunun eldesinde PHILIPS marka katı meyve sıkacağı (HR1836/00, Hollanda) kullanılmıştır. Elmaların kabukları soyulup sapları çıkarıldıktan

sonra kúp Şeklinde kesilmiŐ ve cihazın haznesine ilave edildikten sonra elma suyu elde edilmiştir. Elde edilen elma suyu su banyosunda 85 °C’de 10 dk s¼re ile past¼rize edilmiştir (Şekil 3.17). Past¼rizasyon sonrası elma sular¼ ise Şekil 3.18’de g¼sterilmiŐtir.

Past¼rizasyon sonrası elma suyunun °Bx, pH, toplam asitlik ve su aktivitesi analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.17 : Elma suyunun past¼rizasyonu.



Şekil 3.18 : Past¼rize elma suyu.

#### 3.2.14.2 Co-enkaps¼le edilmiş *L. acidophilus*’un elma suyuna ilavesi ve depolanması

Elma suyunda depolama stabilitesinin belirlenmesi amacıyla en y¼ksek enkaps¼lasyon etkinliğine sahip F3 form¼lasyonu ile elde edilen enkaps¼ller kullanılmıştır. F3 form¼lasyonu ile elde edilen enkaps¼ller alıç suyu içerdikleri için alıç suyunun *L. acidophilus* canlılığı üzerine etkisinin anlaşılması amacıyla alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkaps¼lleri (P3)’nin de aynı depolama Őartlarında depolamas¼ gerçekleştirilmiş ve depolama stabilitesi incelenmiştir. Ayrıca bu enkaps¼llerin, enkaps¼lasyon öncesi ¼zelteleri de aynı Şartlarda depolanmış ve b¼ylece enkaps¼lasyon işleminin *L. acidophilus* canlılığı üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Elma suyuna alıç suyu ile co-enkaps¼le edilmiş *L. acidophilus*’un ilavesi ve depolama stabilitesinin belirlemesi, Rodrigues ve diğ. (2012) ile Sohail ve diğ. (2012) rapor ettikleri y¼ntemler modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2’de analizlerde kullanılan örneklerin Şematik olarak aıklamas¼ verilmiştir. A3, F3, S3 ve P3 steril elma suyunda ve steril PSF ¼zeltisinde depolanmış olan örnekleri ifade etmektedir. FC elma suyunun kontrol¼n¼ oluŐtururken, SC ise PSF ¼zeltisinin kontrol¼n¼ belirtmektedir.

**Çizelge 3.2 :** Depolama stabilitesi için kullanılan örneklerin şematik açıklaması.

<b>Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş <i>L. acidophilus</i> için depolama parametreleri</b>												
<b>Ortam</b>	<b>Steril elma suyu (9 mL)</b>											
<b>Sıcaklık</b>	<b>4 °C</b>						<b>25 °C</b>					
<b>Süre (Gün)</b>	0	14	28	42	56	84	0	14	28	42	56	84
<b>Örnekler</b>												
FC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3 (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F3 (g)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Ortam</b>	<b>Steril PSF çözeltisi (9 mL)</b>											
<b>Sıcaklık</b>	<b>4 °C</b>						<b>25 °C</b>					
<b>Süre (Gün)</b>	0	14	28	42	56	84	0	14	28	42	56	84
<b>Örnekler</b>												
SC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3 (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F3 (g)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Alıç suyu içermeyen <i>L. acidophilus</i> enkapsülleri için depolama parametreleri</b>												
<b>Ortam</b>	<b>Steril elma suyu (9 mL)</b>											
<b>Sıcaklık</b>	<b>4 °C</b>						<b>25 °C</b>					
<b>Süre (Gün)</b>	0	14	28	42	56	84	0	14	28	42	56	84
<b>Örnekler</b>												
FC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S3 (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P3 (g)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Ortam</b>	<b>Steril PSF çözeltisi (9 mL)</b>											
<b>Sıcaklık</b>	<b>4 °C</b>						<b>25 °C</b>					
<b>Süre (Gün)</b>	0	14	28	42	56	84	0	14	28	42	56	84
<b>Örnekler</b>												
SC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S3 (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P3 (g)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

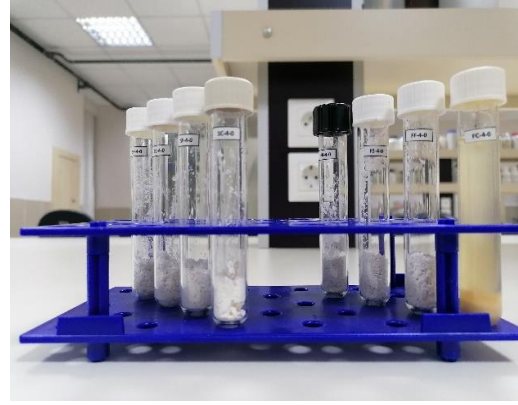
FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, SC: Kontrol (PSF çözeltisi), S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Şekil 3.19’da gösterilen analiz koşullarında depolama stabilitesi analizleri için elma suyu ve PSF çözeltileri kullanılmıştır. Depolama için steril cam deney tüplerine alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* (1 g) ve alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* örnekleri (1 g) ile bunların enkapsülasyon işlemi öncesi serbest halleri (1 mL) alınmış ve ardından elma suyu ile toplam hacim 10 mL’ye tamamlanmıştır (Şekil 3.20 ve Şekil 3.21). Kontrol (FC) olarak ise steril cam deney tüpüne elma suyu (10 mL) konulmuştur.





**Şekil 3.19 :** Meyve suyu ve PSF çözeltisi içinde depolama stabilitesi için analiz ortamı.

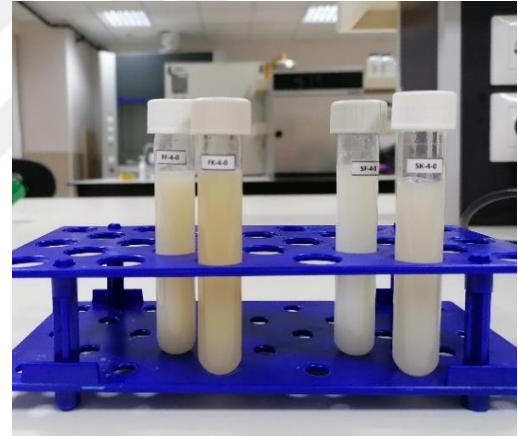


**Şekil 3.20 :** Enkapsüllerin deney tüplerine alınması.

Şekil 3.22’de görüldüğü gibi depolamaya hazır örnekler sıcaklığın 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda 0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün boyunca depolanmış ve belirtilen sürelerde stabiliteyi takip edilmiştir. Aynı şekilde depolama stabilitesi analizleri meyve suyu yerine PSF çözeltisi kullanılarak da incelenmiştir.



**Şekil 3.21 :** Deney tüplerine meyve suyu ve PSF çözeltisi ilavesi.



**Şekil 3.22 :** Depolamaya hazır örnekler.

Canlılık düzeyleri, Afzaal ve diğ. (2019)’nin rapor ettikleri yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Çizelge 3.2’de belirtilen sürelerin sonunda depolanmış olan deney tüplerinde bulunan çözeltilerden 1’er mL alınarak 10<sup>6</sup>’ya kadar PSF çözeltisi ile seri dilüsyonlar hazırlanmış ve MRS agar üzerine yayma plaka yöntemi ile ekim işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.23). Ekim sonrası petriyer anaerobik koşullarda 38 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.24).

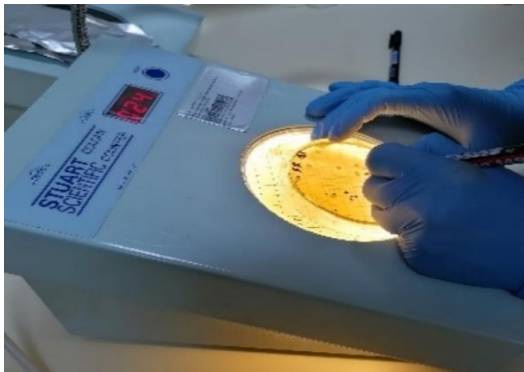
İnkübasyon sonrası petriyer koloni sayım cihazına yerleştirilmiş ve *L. acidophilus*’un canlı koloni sayımı gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.25). *L. acidophilus*’un petriyerde oluşturduğu koloniler Şekil 3.26’da gösterilmiştir.



Şekil 3.23 : Depolama stabilitesinde seri dilüsyonların hazırlanması ve ekim işlemi.



Şekil 3.24 : Depolama stabilite testlerinde petrilerin anaerobik koşullarda 38 °C’de 48 saat inkübasyonu.



Şekil 3.25 : İnkübasyon sonrası koloni sayma cihazında *L. acidophilus*’un canlı koloni sayımı.



Şekil 3.26 : İnkübasyon sonrası petrilerde gelişen *L. acidophilus* kolonileri.

Farklı depolama sıcaklıklarında (4 °C ve 25 °C) depolanan örneklerde depolama süresince (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) belirtilen günlerde fizikokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Her örneğin pH değeri dijital bir pH metre ile °Bx değerleri ise dijital bir refraktometre kullanılarak ölçülmüştür. Toplam asitlik belirlenirken her örnekten 1 mL alınmış ve hacmi saf su ile 10 mL’ye tamamlandıktan sonra fenolftalein eşliğinde 0.1 N NaOH kullanılarak titrasyonu gerçekleştirilmiş ve sonuçlar % malik asit olarak ifade edilmiştir. Ayrıca örneklerin depolama süresi boyunca  $\Delta E$  ve su aktivitesi değerleri de belirlenmiştir. Renk indisleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) aracılığıyla  $\Delta E$  aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (Mokhtari ve diğ, 2019).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)}$$

$\Delta E$ : Toplam renk farkı

$\Delta L$ : Toplam  $L^*$  değeri

$\Delta a$ : Toplam  $a^*$  değeri

$\Delta b$ : Toplam  $b^*$  değeri

### 3.2.15 İstatistiksel analiz

Analizler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ‘ortalama  $\pm$  standart sapma’ şeklinde verilmiştir. Çalışmada çıktıların istatistiksel açıdan değerlendirilmesi için SPSS Statistics (ver. 25, IBM Corp., IL, ABD) paket programı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar tek yönlü varyans analiziyle (one-way ANOVA) değerlendirilmiştir.

Elma suyunda canlılık ve stabilite araştırması, 4 farklı uygulama (alıç suyu içeren ve alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülleri ve bunların enkapsülasyon öncesi çözeltileri) ile farklı depolama ortamları (elma suyu ve PSF çözeltisi), farklı depolama koşulları (4 °C ve 25 °C) ve farklı depolama süreleri (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) için üç tekrar olarak yürütülmüştür. Serbest ve enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerdeki canlılığa depolama süresinin ve depolama koşullarının etkilerini belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA, genel doğrusal model (general linear model, GLM) ile SPSS Statistics paket programı aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. ANOVA sonucunda örnek gruplar arası farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem düzeyinde test edilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışması aşamalı olarak yürütülmüş olup, öncelikle hammadde (alıç meyvesi) ile ilgili pomolojik ve fizikokimyasal analizler (pH, su aktivitesi, toplam asitlik, toplam kuru madde, kül, °Bx ve maturasyon indeksi) gerçekleştirilmiştir. Ardından alıç meyvesinin antioksidan ve fenolik bileşimi ile ilgili analizlerin gerçekleştirilmesi için ekstraksiyon yapılmıştır. Elde edilen ekstraktlarda spektrofotometrik olarak toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite düzeyleri (DPPH, ABTS ve FRAP) ve HPLC yöntemi ile  $\beta$ -karoten, A vitamini, organik asit, şeker ve bireysel fenolik bileşik içeriklerin belirlenmesi sağlanmıştır.

Bir sonraki aşamada alıç meyvesinden alıç suyu hazırlanmış ve alıç suyunun karakterizasyonu (toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite düzeyleri) yapılmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise prebiyotik olarak alıç suyu, probiyotik bakteri olarak *L. acidophilus* ve kaplama malzemeleri (MD ve IN) kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsüller elde edilmiştir. Kaplama malzemelerinin farklı oranlarda kullanılması ile elde edilen enkapsüllerin enkapsülasyon etkinliği ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. En yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip enkapsüllerin *in vitro* gastrointestinal koşullardaki ve elma suyu ortamındaki, farklı sıcaklık ve sürelerde, depolama stabiliteilerinin belirlenmesi araştırılmıştır.

### 4.1 Meyve Analizleri

#### 4.1.1 Pomolojik özellikler

Alıç örneklerinden rastlantısal olarak numuneler alınmış ve *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesine ait pomolojik özellikler Çizelge 4.1'de verilmiştir. Meyvenin çekirdek sayısı bütün örnekler için aynı (ortalama  $2.00 \pm 0.00$ ) olarak belirlenmişken meyve ağırlığı  $3.50 \pm 0.49$  g olarak saptanmıştır. Meyve eti oranı ise  $\% 93.72 \pm 2.12$  olarak tespit edilmiştir. Ercişli ve diğ. (2015) Malatya'dan temin ettikleri alıç türlerinde meyve ağırlığının  $0.76-4.27$  g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Hakkari'de yetişen alıçların, meyve ağırlığının  $2.16$  ile  $4.89$  g arasında, meyve eti oranının ise  $\% 77.84$  ile  $\% 85.99$  arasında olduğu belirlenmişken, bir diğer çalışmada ise Konya'da yetişen alıçların ortalama meyve ağırlığının  $3.03$  g olduğu ifade edilmiştir (Özcan ve diğ, 2005; Yaviç ve diğ, 2016). Çalışmadan elde ettiğimiz veriler literatür ile benzerlik göstermekle

birlikte meyve eti oranının bazı çalışmalara göre daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı coğrafi koşullar altında meyve ağırlıkları ve germplazm boyutlarındaki farklılık genotipik etkilerden kaynaklanabilmektedir. Daha yüksek meyve ağırlığı ve daha yüksek meyve eti oranı, alıç yetiştirme programlarında arzu edilen en önemli meyve özelliklerinden biridir (Ercisli, 2004). Tez çalışmasında alıç meyvesinin boy ve eni sırasıyla  $14.97 \pm 1.08$  mm ve  $18.65 \pm 1.42$  mm olarak tespit edilmiştir. Bir çalışmada Türkiye'deki alıç genotiplerinin meyve boyu ve eninin sırasıyla  $8.43 \pm 0.12$  ve  $17.58 \pm 0.23$  mm ve  $6.56 \pm 0.93$  ve  $20.71 \pm 1.22$  mm arasında değiştiği bildirilmiştir (Gurlen ve diğ, 2020). Yine elde ettiğimiz sonuçların literatürle benzerlik gösterdiği görülmektedir.

**Çizelge 4.1 : *C. orientalis* subsp. *orientalis*'in pomolojik özellikleri.**

Özellikler	Ortalama $\pm$ SH
Meyve ağırlığı (g)	$3.50 \pm 0.49$
Meyve eni (mm)	$18.65 \pm 1.42$
Meyve boyu (mm)	$14.97 \pm 1.08$
Meyve indeksi (En/boy)	$1.25 \pm 0.09$
Çekirdek sayısı	$2.00 \pm 0.00$
Çekirdek ağırlığı (g)	$0.19 \pm 0.05$
Çekirdek eni (mm)	$6.66 \pm 0.61$
Çekirdek boyu (mm)	$7.97 \pm 0.85$
Çekirdek indeksi (En/boy)	$0.84 \pm 0.10$
Meyve eti oranı (%)	$93.72 \pm 2.12$

#### 4.1.2 Fizikokimyasal özellikler

Bu tez çalışması kapsamında *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin fizikokimyasal özelliklerine dair edinilen veriler Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Çalışmada toplam asitlik malik asit cinsinden  $\% 0.86 \pm 0.01$  olarak saptanmıştır. Alirezalu ve diğ. (2020), 15 farklı alıç türünde gerçekleştirdikleri çalışmalarında en yüksek asitliği  $\% 1.17$  olarak (sarı renkli alıç meyvelerinde), en düşük asitlik değerini ise  $\% 0.75$  olarak saptamışlardır. Başka bir çalışmada Gündoğdu ve diğ. (2014), *C. orientalis* var. *orientalis* için toplam asitliği  $\% 1.78$  olarak belirlemişler ve bazı *Crataegus* türleri için sitrik asidi baskın organik asit olarak ifade etmişlerdir. Birçok *Crataegus* türünde sitrik asidin baskın organik asit olduğu bilinmekte olup, bunu çoğunlukla malik ve süksinik asit takip etmektedir (Gundogdu ve diğ, 2014; Gurlen ve diğ, 2020). Tez çalışması kapsamında meyvede bulunan baskın organik asitler malik asit ( $2.38 \pm 0.22$  g/100 g KA) ve sitrik asit

( $1.29 \pm 0.04$  g/100 g KA) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Farklı çalışmalarda, *C. orientalis* için malik asit içeriği 1.35 g/100 g YA (Gundogdu ve diğ, 2014) ve ortalama 2.65 g/100 g YA olarak ifade edilmiştir (Muradoğlu ve diğ, 2019).

Tez çalışmasında *C. orientalis* subsp. *orientalis*'in pH, toplam kuru madde içeriği, suda çözüner kuru madde miktarı, su aktivitesi ve kül içeriği ise sırasıyla  $4.38 \pm 0.01$ , %  $26.11 \pm 0.42$ ,  $17.25 \pm 0.50$  °Bx,  $0.952 \pm 0.003$  ve %  $0.66 \pm 0.03$  olarak saptanmıştır. Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetişen alıç genotipleri üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada toplam çözüner kuru madde içeriği ve pH değeri nin sırasıyla % 11.66–24.00 ve 3.12 ila 4.09 arasında değiştiği bildirilmiştir (Yanar ve diğ, 2011). Bir başka çalışmada ise *Crataegus* cinsine ait 15 farklı tür için pH (3.03-4.35), titrasyon asitliği (% 0.75-1.17), toplam kuru madde (% 5.27-19.43) ve suda çözüner kuru madde içeriklerinin (% 14.99-23.43) geniş bir aralıkta değiştiği gösterilmiştir (Alirezalu ve diğ, 2020).

Meyvelerin fizikokimyasal özellikleri, kalite ve olgunlaşmalarının önemli göstergeleridir. Meyvelerin olgunluk derecesini belirlemede kullanılan maturasyon indeksi (°Bx/toplam asitlik), meyvenin en ideal olgunluk döneminde tüketimi için önemli bir parametredir. Bu tez çalışmasında maturasyon indeksi  $19.99 \pm 0.31$  olarak tespit edilmiştir. Suşehri'nde doğal olarak yetişen alıçlar üzerine yapılan bir çalışmada suda çözüner kuru madde miktarının  $14.80$ – $21.80$  °Bx arasında, asitliğin ise % 0.38 ila % 1.58 arasında değiştiğini belirlemiştirler (Ağlar ve diğ, 2020). Araştırmalar, genetik faktörlerin, iklim özelliklerinin ve toprak yapısının meyvelerin biyokimyasal özelliklerini etkilediğini göstermiştir (Ağlar ve diğ, 2020).

**Çizelge 4.2 :** *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin fizikokimyasal özellikleri.

<b>Fizikokimyasal özellikler</b>	<b>Ortalama <math>\pm</math> SH</b>
pH	$4.38 \pm 0.01$
Su aktivitesi	$0.952 \pm 0.003$
Toplam asitlik (% malik asit)	$0.86 \pm 0.01$
Toplam kuru madde içeriği (%)	$26.11 \pm 0.42$
Suda çözüner kuru madde miktarı (°Bx)	$17.25 \pm 0.50$
Kül içeriği (%)	$0.66 \pm 0.03$
Maturasyon indeksi	$19.99 \pm 0.31$

Meyvelerde görünümü ve tüketiciler tarafından kabul ve tercih edilebilirliğini etkileyen parametrelerden birisi de renktir. Olgun bir alıç meyvesinin renginin sarıdan yeşile, kırmızıya ve koyu mora kadar değişiklik gösterebileceği bilinmektedir (Ağlar ve

diğ, 2020). Türkiye’de yayılış gösteren *Crataegus* türleri meyve rengi bakımından büyük farklılıklar sergilemektedir. *C. orientalis* meyvesi kırmızımsı-turuncu renk göstermektedir (Yanar ve diğ, 2011).

Tez çalışması kapsamında kullanılan alıç meyvelerinin görseli Şekil 3.1’de ve *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin renk parametrelerine dair edinilen veriler ise Çizelge 4.3’de ifade edilmiştir. Buna göre  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri sırasıyla  $34.94 \pm 0.92$ ,  $30.67 \pm 0.65$  ve  $27.34 \pm 0.43$  olarak tespit edilmiştir. Bu değerlerden  $L^*$  parlaklığı ifade etmekle birlikte  $L=0$  siyah ve  $L=100$  beyaza karşılık gelmektedir.  $+a^*$  değeri kırmızılığı,  $-a^*$  değeri yeşilliği,  $+b^*$  değeri sarılığı ve  $-b^*$  değeri ise maviliği göstermektedir. Alıç meyvelerinde renk, beyazdan (düşük konsantrasyonlar) maviye (yüksek konsantrasyonlar) fenolik bileşiklerin içeriği ve konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Alirezalu ve diğ, 2020).

**Çizelge 4.3 :** *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin renk değerleri.

Renk parametreleri	Ortalama $\pm$ SH
$L^*$	$34.94 \pm 0.92$
$a^*$	$30.67 \pm 0.65$
$b^*$	$27.34 \pm 0.43$
Chroma ( $C^*$ )	$41.08 \pm 0.76$
Hue açısı ( $h^\circ$ )	$41.72 \pm 0.26$
$\Delta E$	$53.93 \pm 1.17$

Çalışmada  $C^*$  ve  $h^\circ$  değerleri sırasıyla  $41.08 \pm 0.76$  ve  $41.72 \pm 0.26$  olarak belirlenmiştir.  $C^*$  değeri yükseldikçe örneğin rengi daha parlak, küçüldükçe ise daha mat olarak gözlenmektedir.  $h^\circ$  değeri ise hue açısını ifade etmekte olup  $0^\circ$ ’ye yaklaştıkça üründe kırmızılığı ifade etmektedir. *C. orientalis* subsp. *orientalis* için  $\Delta E$  değerinin  $53.93 \pm 1.17$  olduğu belirlenmiş olup bu değer toplam renk farkını göstermektedir.

Serçe ve diğ. (2011) çalışmalarında Hatay’da yetişen *C. orientalis* var. *orientalis* için  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  ve  $h^\circ$  değerlerini sırasıyla 54.3, 30.0, 36.8, 47.9 ve 51.1 olarak ifade etmişler ve meyvenin kırmızı renkli ve küresel şekle sahip olduğuna değinmişlerdir. Başka bir çalışmada taze *C. orientalis* meyvesinde  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  ve  $h^\circ$  değerlerinin sırasıyla 61.86, 11.65, 49.07, 50.56 ve 76.82 olduğu rapor edilmiştir (Çoklar ve diğ, 2018). Alirezalu ve diğ. (2020), 15 farklı alıç türü için gerçekleştirdikleri çalışmalarında *C. orientalis* meyvesi için  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  ve  $h^\circ$  değerlerini sırasıyla 26.89, 27.74, 42.73, 50.97 ve 57.06 olduğunu bildirmişlerdir.

#### 4.1.3 Toplam fenolik içerik

*C. orientalis subsp. orientalis* meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ile toplam fenolik içerik belirlenmiş olup sonuçlar  $24.91 \pm 0.19$  mg GAE/g KA,  $24.77 \pm 0.14$  mg GAE/g KA ve  $25.21 \pm 0.13$  mg GAE/g KA olarak tespit edilmiştir. Meyvelerin fenolik içerikleri, genotiplerinden, habitat koşullarından ve olgunluk düzeylerinden etkilenmektedir. Fenolik bileşiklerden biri olan flavonoidlerin, *Crataegus* türlerinin önemli farmakolojik aktivitelerinden sorumlu en kritik ve başlıca bileşik olduğu bildirilmiştir (Refaat ve diğ., 2010). Čopra-Janićijević ve diğ. (2018), *C. microphylla* meyveleri için ekstrakttaki toplam fenolik içeriğin  $2.47\text{--}8.63$  mg GAE/g KA arasında değiştiğini belirlemişlerken, Froehlicher ve diğ. (2009), *C. monogyna* meyveleri için bu değeri  $12.82$  mg GAE/g KA olarak tespit etmişlerdir.

Çoklar ve diğ. (2018), *C. orientalis* türüne ait taze alıç meyvesinde toplam fenolik içeriği,  $13.36$  mg GAE/g KA olarak belirlemişlerdir. Yalçın Dokumacı ve diğ. (2021), *C. monogyna* Jacq. var. *monogyna* türü alıçta toplam fenolik içerik değerini  $9.35 \pm 1.05$  mg GAE/g olarak saptamışlardır. Cuosmulescu ve diğ. (2017) yenilebilir yabancı meyveler üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında *C. monogyna* türü alıç meyvesi için toplam fenolik içeriğin  $2.03 \pm 0.10$  mg GAE/g YA olduğunu rapor etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada Şırnak bölgesinden toplanmış *C. monogyna* meyvelerinde toplam fenolik içerik değeri  $1.84 \pm 0.27$  mg GAE/g KA olarak tespit edilmiştir (Ceylan ve diğ., 2019). Çalışma kapsamında elde edilen toplam fenolik içerik değerleri, literatürde belirtilen değerlerden daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Alıç meyvesinde bulunan fenolik bileşikler üzerine tür ve çeşitlerin etkisi olmakla birlikte meyvenin yetiştiği coğrafi konumun da etkili olduğu bilinmektedir. Bazı çalışmalarda bitki organlarının fenolik içeriğinin genotip ve habitat koşullarından etkilendiği ifade edilmekle birlikte, yükseklik, sıcaklık, ışık ve toprakta bulunan besleyici madde içeriğinin de fenilpropanoid metabolizmasını etkileyebileceği öne sürülmüştür (Martz ve diğ., 2010). Bu etkenler ile birlikte hasat zamanının da fenolik içeriği etkileyen faktörlerden olduğu bilinmektedir. Ayrıca, alıç meyvesinin fenolik içeriği, ekstrakt hazırlama koşullarından ve polifenollerin kimyasal tayin yönteminden de etkilenmektedir. Meyvelerin fenolik bileşimi, genetik ve çevresel faktörler tarafından belirlenirken işleme ve depolama sırasındaki oksidatif reaksiyonlarla değiştirilebilmektedir (Robards ve diğ., 1999).



Tahirović ve Bašić (2014), *C. monogyna* L.'de farklı oranlarda su ve farklı çözücüler (su, etanol, metanol) kullanarak yaptıkları ekstraksiyonlarda meyvenin toplam fenolik içeriğinin 2.02–4.60 mg GAE/g YA arasında değiştiğini tespit etmişler. Bir başka çalışmada *C. oxyacantha* alıç türlerinin farklı su oranları ve farklı çözücüler ile ekstraksiyonu sonucu toplam fenolik içeriğinin 2.12–30.63 mg GAE/g YA aralığında olduğu belirlenmiştir (Kostić ve diğ, 2012). Çalışkan ve diğ. (2012), metanol ekstraksiyonunda 15 farklı alıç çeşidinin toplam fenolik içeriğinin 26.60–57.10 mg GAE/g KA arasında değiştiğini saptamışlardır. Organik çözücülerin su ile belirli oranlarda karıştırıldığı ekstraksiyonlarda fenolik veriminde genellikle artış gözlenmektedir (Spigno ve diğ, 2007). Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenolik içerik, olası enterferans yapan bileşiklerin (şekerler, aromatik aminler, kükürt dioksit, C vitamini, organik asitler, yanıtıcı derecede yüksek sonuçlar üretebilen demir (II) ve polifenolik olmayan diğer maddeler) varlığı nedeniyle ekstraktlarda bulunan polifenolik bileşiklerin miktar ve kalitesinin tam bir temsilini sunmamaktadır (Singelton ve diğ, 1999). Bu sebeple yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir. Bu farklılıklarda yetiştirme koşulları, doğal habitat, genotip, büyüme evresi, ekstraksiyon prosedürü, ekstraksiyonda kullanılan çözgen içeriği ve toplam fenolik tayin yöntemi gibi faktörler etkilidir (Şavikin ve diğ, 2017).

#### 4.1.4 Antioksidan aktivite değerleri

Antioksidan kapasite, gıdalardaki ve biyolojik sistemlerdeki redoks moleküllerinin serbest radikalleri temizleme yeteneğini tanımlamakta olup bu değer tek bir bileşiğin etkisinden ziyade tüm biyoaktif bileşiklerin katkı ve sinerjistik etkilerini göz önüne sermektedir (Lou ve diğ, 2020). Meyvelerin antioksidan özellik göstermeleri bileşimlerinde yer alan fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir. *C. orientalis subsp. orientalis* meyve ekstraktlarında bulunan antioksidan aktivite değerleri DPPH, ABTS ve FRAP olmak üzere üç farklı yöntemle göre belirlenmiş olup edinilen antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.4'te ifade edilmiştir.

**Çizelge 4.4 :** *C. orientalis subsp. orientalis* meyve ekstraktlarında bulunan antioksidan aktivite değerleri.

Yöntem	Ortalama ± SH
DPPH (mmol TE/kg KA)	159.24 ± 1.04
ABTS (mmol TE/kg KA)	119.77 ± 0.26
FRAP (mmol TE/100 g KA)	3.52 ± 0.11

#### 4.1.4.1 DPPH

Ekstraktların serbest radikal süpürme gücü, serbest DPPH radikalleri kullanılarak kararsız hidrojen atomunu serbest radikallere iletebilme veya radikal süpürme kabiliyeti açısından ölçülmüştür. Analizler 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup meyve ekstraktlarının DPPH radikal süpürme güçleri  $158.19 \pm 0.06$  mmol TE/kg KA,  $160.26 \pm 0.26$  mmol TE/kg KA ve  $159.26 \pm 0.52$  mmol TE/kg KA olarak belirlenmiştir.

Çoklar ve diğ. (2018), taze *C. orientalis* türüne ait alıç meyvesinde DPPH yöntemiyle antioksidan aktiviteyi 35.78 mmol TE/kg KA olarak belirlemişlerken Ruiz-Rodríguez ve diğ. (2014), çalışmalarında *C. monogyna* Jacq. için aynı değeri ortalama 15.4 mmol TE/kg KA olarak saptamışlardır. Başka bir çalışmada *C. orientalis* türüne ait alıçta farklı çözücülerin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine etkisini incelemişler ve DPPH yöntemine göre antioksidan aktiviteyi en yüksek 40.6 mmol TE/kg KA olduğunu bildirmişlerdir (Çoklar ve Akbulut, 2016). Yine farklı bir çalışmada alıç meyvesinde DPPH yöntemine göre antioksidan aktivite değeri 0.32 mmol TE/100 g YA olarak ifade edilmişken Liu ve diğ. (2019) ise çalışmalarında aynı değeri 34.8 mmol TE/kg KA olarak saptamışlardır. Bu tez çalışmasında olduğu gibi çalışmalardan, yüksek toplam fenolik içeriğe sahip meyvelerin her zaman yüksek antioksidan aktivite değerleri sunmadığı ve meyvelerde bulunan antioksidan aktivitenin doğrudan toplam fenolik içerikten etkilenmediği anlaşılmaktadır.

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinde kimyasal yapıları kadar konsantrasyonları da etkili olmaktadır. Genel olarak flavonoidler, antioksidan aktiviteye katkıda bulunan yapısal elementlerden (B halkasında bir orto-dihidroksi yapısı (3',4'- OH), C halkasında bir 4-okso fonksiyonu ile birleştirilmiş 2,3- çift bağ ve 3 ve 5 pozisyonlarındaki hidroksil grupları) bir veya daha fazlasının mevcudiyeti nedeniyle fenolik asitlerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Lou ve diğ, 2020).

#### 4.1.4.2 ABTS

ABTS, hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabilen bir renk giderme yöntemi olmakla birlikte, ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu ile  $ABTS^+$  üretilmekte ve hidrojen veren antioksidanların varlığında indirgenmektedir. Tez çalışması kapsamında analizler 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Meyve ekstraktlarının ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri mmol TE/kg KA

olarak ifade edilmiş olup sonuçlar  $119.51 \pm 0.41$  mmol TE/kg KA,  $119.77 \pm 0.45$  mmol TE/kg KA ve  $120.02 \pm 0.41$  mmol TE/kg KA olarak tespit edilmiştir.

*C. orientalis* türüne ait taze meyvede gerçekleştirilen bir çalışmada ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitenin  $57.74$  mmol TE/kg KA olduğu ifade edilmişken *C. monogyna* Jacq. türü alıcın kullanıldığı farklı bir çalışmada ABTS antioksidan aktivite değeri ortalama  $37.7$  mmol TE/kg YA olarak saptanmıştır (María Ruiz-Rodríguez ve diğ., 2014; Çoklar ve diğ., 2018).

#### 4.1.4.3 FRAP

Demir indirgeme gücü, elektron transfer reaksiyonuna dayanan bir yöntemdir. Potansiyel bir antioksidan, mavi bir kompleks oluşturarak, düşük pH'da  $Fe^{+3}$  iyonunu,  $Fe^{+2}$  iyonuna indirgemektedir. Analizler 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup meyve ekstraktlarının FRAP yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri mmol TE/100 g KA olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar  $3.47 \pm 0.13$  mmol TE/100 g KA,  $3.60 \pm 0.19$  mmol TE/100 g KA ve  $3.51 \pm 0.03$  mmol TE/100 g KA olarak belirlenmiştir.

Mraihi ve diğ. (2013) çalışmalarında *C. monogyna* ve *C. azarolus* türü alıç pürelerinde FRAP yöntemi ile antioksidan aktiviteyi sırasıyla  $5.44$  mM TE ve  $4.40$  mM TE olarak belirlemişlerken Ruiz-Rodríguez ve diğ. (2014) *C. monogyna* Jacq. için aynı değeri ortalama  $7.11$  mmol TE/100 g YA olarak saptamışlardır. Ceylan ve diğ. (2019), Şırnak bölgesinden toplanmış *C. monogyna* meyvelerinde FRAP yöntemine göre antioksidan aktiviteyi  $0.04 \pm 0.00$   $\mu$ mol Fe/g KA olarak ifade etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada *C. pinnatifida* Bge. türü alıçta FRAP yöntemiyle antioksidan aktivite belirlenmesi gerçekleştirilmiş ve bu değer  $2.07$  mmol TE/100 g KA olduğu tespit edilmiştir (Liu ve diğ., 2019).

#### 4.1.5 HPLC analizleri

*C. orientalis* subsp. *orientalis* meyve ekstraktında 9 fenolik bileşik için HPLC sisteminde belirlemeye gidilmiş olup elde edilen kromatogramlar Şekil 4.1'de ve elde edilen veriler Çizelge 4.5'te ifade edilmiştir.

Çizelge 4.5'e göre, alıç meyve ekstraktında en fazla bulunan fenolik bileşikler prosiyanidin B2 ( $644.50 \pm 0.26$  mg/kg KA), klorojenik asit ( $267.82 \pm 0.29$  mg/kg KA), rutin ( $233.84 \pm 0.10$  mg/kg KA) ve (+)-kateşin ( $198.10 \pm 0.03$  mg/kg KA) olarak

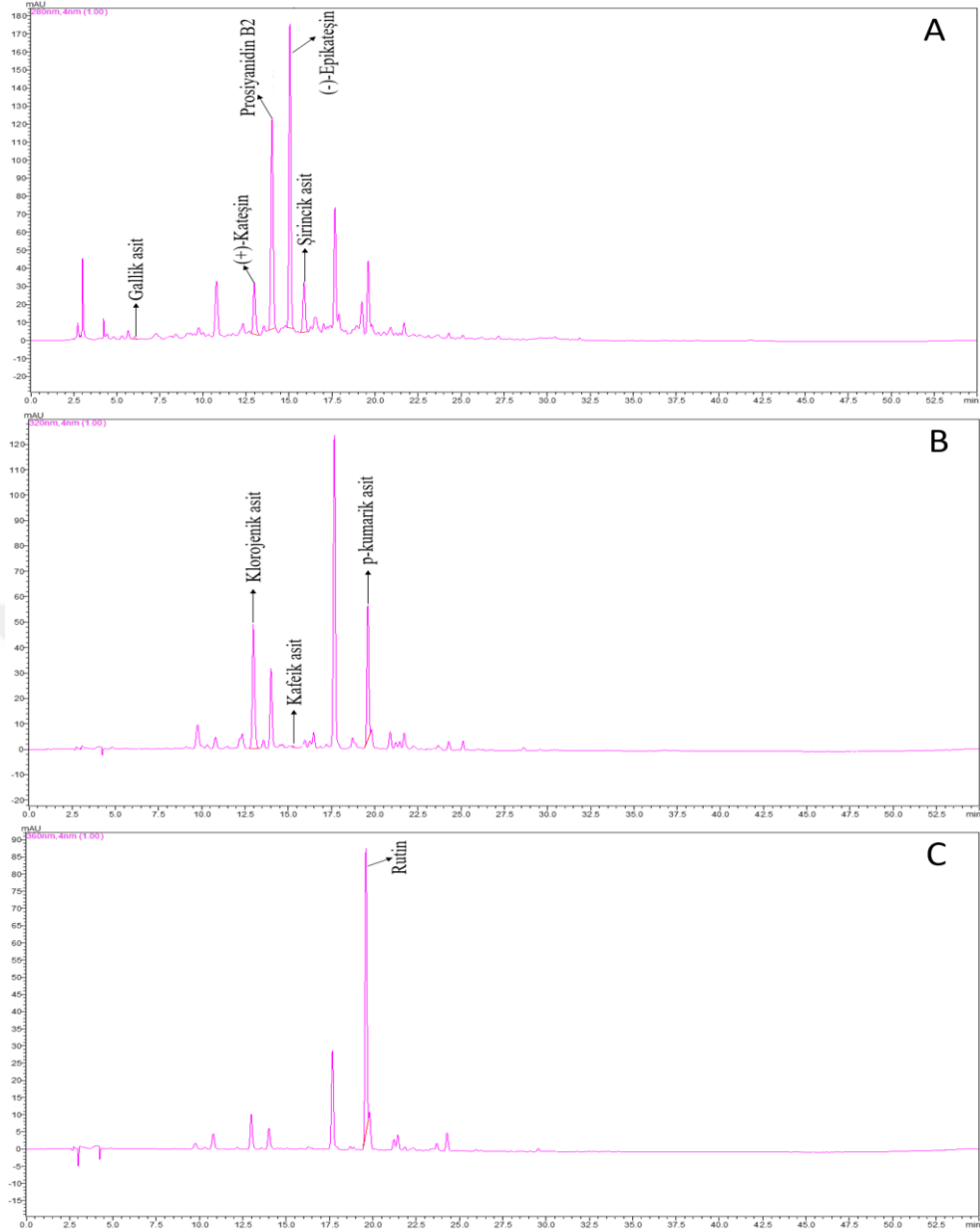
belirlenmişken en az bulunan fenolik bileşiğin ise kafeik asit ( $0.18 \pm 0.01$  mg/kg KA) olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.5 :** *C. orientalis subsp. orientalis* meyvesinin fenolik bileşik içeriği (mg/kg KA).

Dalga boyu	Fenolik bileşikler	Ortalama $\pm$ SH
280 nm	Gallik asit	$1.74 \pm 0.00$
	(+)-Kateşin	$198.10 \pm 0.03$
	Prosiyanidin B2	$644.50 \pm 0.26$
	(-)-Epikateşin	$195.19 \pm 0.58$
	Şirincik asit	$30.63 \pm 0.49$
320 nm	Klorojenik asit	$267.82 \pm 0.29$
	Kafeik asit	$0.18 \pm 0.01$
	p-Kumarik asit	$30.40 \pm 0.18$
360 nm	Rutin	$233.84 \pm 0.10$

Alıç güçlü antioksidan aktivite sergileyen fenolik bileşikleri önemli miktarda içermekte ve bu bileşiklerin çoğunu flavan-3-ol monomer birimlerinden meydana gelen proantosiyandinler oluşturmaktadır (Chai ve diğ., 2014). Bu tez çalışması kapsamında olduğu gibi *C. orientalis* meyvelerinin fenolik içeriklerini inceleyen Çoklar ve Akbulut (2016), metanol:su ile gerçekleştirdikleri ekstraksiyon sonucu en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşiği prosiyanidin B2 olarak tanımlamışlardır.

Wen ve diğ. (2015), *C. pinnatifida* türüne ait üç farklı alıç çeşidinde prosiyanidin B2, epikateşin ve klorojenik asidin en fazla bulunan fenolik bileşikler olduğunu ifade etmişlerdir. Muradoğlu ve diğ. (2019), *Crataegus*'un dört farklı türünün meyvelerinde bulunan başlıca fenolik bileşiklerin rutin, kateşin ve kafeik asit olduğunu bildirmişlerken, Çulum ve diğ. (2018), *C. x subsphaericea* türüne ait meyvede rutin, gallik asit ve klorojenik asit içeriklerinin sırasıyla  $30.00 \pm 10.00$  mg/kg KA,  $1.00 \pm 0.00$  mg/kg KA ve  $350.00 \pm 20.00$  mg/kg KA olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Pavlović ve diğ. (2019), *C. pentagyna* Willd. türü meyvelerde en fazla bulunan fenolik bileşiklerin (-)-epikateşin ve prosiyanidin B2 olduğu sonucuna varmışlardır. Çin'de yetiştirilen iki farklı alıç türü (*C. pinnatifida* Bge. var. major N.E.Br. ve *C. pinnatifida* Bge. var.) meyvesinin incelendiği bir başka çalışmada ise her iki türde de en fazla bulunan fenolik bileşiklerin epikateşin ve prosiyanidin B2 olduğu ifade edilmiştir (Zheng ve diğ., 2018). Mevcut çalışmada kullanılan alıç meyvelerinin fenolik bileşikçe zengin olduğu belirlenmiş olup çalışmada edinilen veriler literatür ile benzerlik göstermiştir.



**Şekil 4.1 :** HPLC ile farklı dalga boylarında elde edilen kromatogramlar (A: 280 nm, B: 320 nm ve C: 360 nm).

$\beta$ -karoten, A vitamini sentezinde öncül olmakla birlikte meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan, yağda çözünen antioksidan bir madde olup, vücudumuzda başlıca epidermis ve karaciğerde depolanmaktadır. Karotenoid yapıda olan ve başlıca terpenoidlerde bulunan  $\beta$ -karoten, genellikle havuç ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunmaktadır (Weber ve Grune, 2012).  $\beta$ -karoten, bağırsak epitel hücrelerinde ve palmitatta A vitamini dönüşmektedir (Çöteli ve Karataş, 2017). A vitamini, vücudun enfeksiyonlara karşı direncini arttırmada, görme fonksiyonlarında, kemik büyümesinde, cilt gelişiminde, hücre bölünmesinde, üremede ve ayrıca bağışıklık sistemini güçlendirmede önemli fonksiyonlara sahiptir (Debelo ve diğ, 2017).

Mevcut tez çalışmasında *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin HPLC sisteminde  $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriği belirlemesi sırasıyla 450 nm ve 325 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiş olup elde edilen veriler Çizelge 4.6’da ifade edilmiştir. Mevcut çalışmada *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin  $\beta$ -karoten içeriği  $210.66 \pm 0.30$  mg/kg KA olarak belirlenmişken A vitamini içeriği  $49.15 \pm 0.99$  mg/kg KA olarak tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.6 :** *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin  $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriği (mg/kg KA).

Parametreler	Ortalama $\pm$ SH
$\beta$ -karoten	$210.66 \pm 0.30$
A vitamini	$49.15 \pm 0.99$

Barros ve diğ. (2010), *C. monogyna* türüne ait olgun meyvelerin  $548.4 \pm 1.0$  mg/kg KA düzeyinde  $\beta$ -karoten içerdiğini rapor etmişlerdir. Lou ve diğ (2020), HPLC sisteminde dondurulmuş organik alıç meyvelerinde  $\beta$ -karoten saptayamamışlardır. Başka bir çalışmada ise Malatya’da yetişen *C. laevigata* meyvesinde A vitamini ve  $\beta$ -karoten içeriğinin sırasıyla  $1.14 \pm 0.11$  mg/kg YA ve  $3.87 \pm 0.38$  mg/kg YA olduğu ifade edilmiştir (İbrahim ve diğ, 2017).

*C. orientalis* subsp. *orientalis*’in HPLC sisteminde belirlenen şeker (glukoz, fruktoz ve maltoz) ve organik asit (malik asit ve sitrik asit) içeriğine dair elde edilen konsantrasyon değerleri Çizelge 4.7’de belirtilmiştir. Mevcut çalışmada meyvede bulunan temel şekerleri fruktoz ve glukoz oluşturmakta olup konsantrasyonları sırasıyla  $22.19 \pm 0.02$  g/100 g KA ve  $15.02 \pm 0.04$  g/100 g KA olarak tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.7 :** *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin organik asit ve şeker içeriği (g/100 g KA).

Parametreler	Ortalama $\pm$ SH
Glukoz	$15.02 \pm 0.04$
Fruktoz	$22.19 \pm 0.02$
Maltoz	$1.30 \pm 0.02$
Malik asit	$2.38 \pm 0.33$
Sitrik asit	$1.29 \pm 0.04$

Muradoğlu ve diğ. (2019), *C. orientalis* var. *orientalis* Pallasesx. Bieb için glukoz, fruktoz ve maltoz içeriğini sırasıyla  $9.89$  g/100 g YA,  $17.16$  g/100 g YA ve  $0.036$  g/100 g YA olarak saptamışlardır. Bir başka çalışmada ise *C. orientalis* var. *orientalis* meyvelerinde glukoz ve fruktozun sırasıyla  $11.82 \pm 0.14$  g/100 g YA ve  $16.63 \pm 0.15$  g/100 g YA olduğu

ifade edilmiştir (Gundogdu ve diğ, 2014). Yine başka bir çalışmada Çin’de yetiştirilen alıç meyvelerinde glukoz ve fruktoz içeriklerinin sırasıyla 5.78-12.22 g/100 g KA ve 7.04-13.43 g/100 g KA arasında değiştiği bildirilmiştir (Liu ve diğ, 2010). Diğer çalışmalarda olduğu gibi mevcut tez çalışmasında da fruktoz miktarının glukozu göre daha yüksek olduğu sonucu elde edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında meyvede belirlenen organik asitler ise malik asit ( $2.38 \pm 0.33$  g/100 g KA) ve sitrik asit ( $1.29 \pm 0.04$  g/100 g KA) olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.7). Liu ve diğ (2010), Çin’de yetiştirilen *C. pinnatifida* var. *major* meyveleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada malik ve sitrik asit içeriklerini sırasıyla 0.72 g/100 g KA ve 4.84 g/100 g KA olarak bildirmişler. Başka bir çalışmada ise dört farklı alıç türüne ait meyvelerde malik asit ve sitrik asit içeriklerinin sırasıyla 2.48-4.21 g/100 g YA ve 0.66-3.03 g/100 g YA arasında değiştiği rapor edilmiştir (Muradoğlu ve diğ, 2019).

## 4.2 Alıç Suyu Analizleri

### 4.2.1 Alıç suyunda bazı fizikokimyasal özellikler

Alıç suyunun bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.8’de ifade edilmiştir. Buna göre alıç suyunda pH, su aktivitesi, toplam asitlik, toplam kuru madde içeriği ve suda çözünen kuru madde içeriği sırasıyla  $4.56 \pm 0.01$ ,  $0.966 \pm 0.001$ , %  $0.27 \pm 0.01$  (malik asit), %  $5.20 \pm 0.00$  ve  $5.0 \pm 0.1$  °Bx olarak tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.8 :** Alıç suyunun fizikokimyasal özellikleri.

<b>Fizikokimyasal özellikler</b>	<b>Ortalama <math>\pm</math> SH</b>
pH	$4.56 \pm 0.01$
Su aktivitesi	$0.966 \pm 0.001$
Toplam asitlik (% malik asit)	$0.27 \pm 0.01$
Toplam kuru madde içeriği (%)	$5.20 \pm 0.00$
Suda çözünen kuru madde miktarı (°Bx)	$5.0 \pm 0.1$

### 4.2.2 Alıç suyunda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri

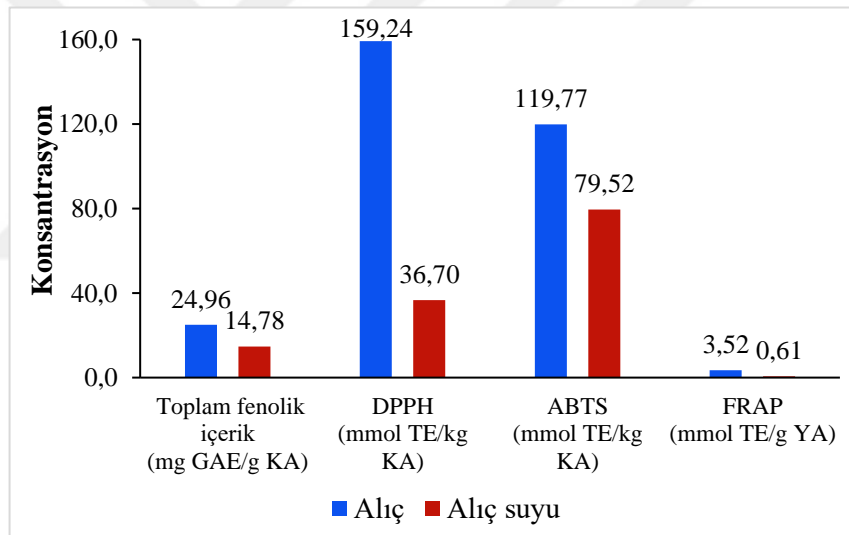
Alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri (DPPH, ABTS ve FRAP) Çizelge 4.9’da belirtilmiştir. Buna göre, enkapsülasyon için formülasyona dahil edilen alıç suyunda toplam fenolik içerik  $14.78 \pm 0.29$  mg GAE/g KA olarak belirlenmiştir. Ayrıca DPPH, ABTS ve FRAP analizleri sonucu edinilen antioksidan aktivite değerleri ise sırasıyla  $36.70 \pm 0.14$  mmol TE/ kg KA,  $79.52 \pm 0.06$  mmol TE/ kg KA ve  $0.61 \pm 0.02$

mmol TE/100 g YA olarak tespit edilmiştir. Böylece enkapsülasyonda kullanılan alıç suyunda fenolik bileşiklerin var olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

**Çizelge 4.9 :** Alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri.

Yöntem	Ortalama $\pm$ SH
Toplam fenolik içerik (mg GAE/g KA)	14.78 $\pm$ 0.29
DPPH (mmol TE/kg KA)	36.70 $\pm$ 0.14
ABTS (mmol TE/kg KA)	79.52 $\pm$ 0.06
FRAP (mmol TE/100 g YA)	0.61 $\pm$ 0.02

Enkapsülasyonda kullanılacak olan alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Alıç suyunda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitenin meyveye kıyasla daha düşük miktarda tespitinin seyreltme işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir.



**Şekil 4.2 :** Alıç ve alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri.

#### 4.2.3 Alıç suyunun organik asit ve şeker içeriği

HPLC sisteminde alıç suyunun şeker (glukoz, fruktoz ve maltoz) ve organik asit (malik asit ve sitrik asit) içeriği incelenmiş ve edinilen veriler Çizelge 4.10’da belirtilmiştir. Çizelge 4.10’da görüldüğü gibi, alıç suyunda bulunan malik asit ve sitrik asit konsantrasyonları sırasıyla 0.32  $\pm$  0.03 g/100 g KA ve 0.16  $\pm$  0.04 g/100 g KA olarak tespit edilmiştir. Alıç suyunda glukoz ve fruktoz sırasıyla 1.59  $\pm$  0.19 g/100 g KA ve 2.33  $\pm$  0.27 g/100 g KA olarak belirlenmişken maltoz tespit edilmemiştir. Enkapsülasyonda kullanılan alıç suyunun bileşiminde şeker ve asit varlığının söz konusu olduğu görülmektedir.



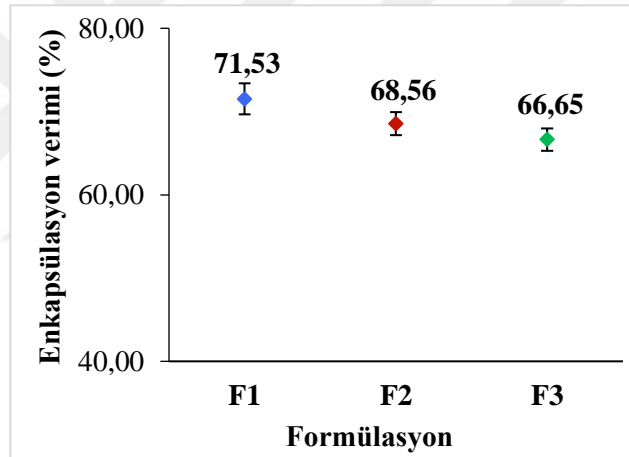
**Çizelge 4.10 :** Alıç suyunun organik asit ve şeker içeriği (g/100 g KA).

Parametreler	Ortalama $\pm$ SH
Glukoz	1.59 $\pm$ 0.19
Fruktoz	2.33 $\pm$ 0.27
Maltoz	TE*
Malik asit	0.32 $\pm$ 0.03
Sitrik asit	0.16 $\pm$ 0.04

\*TE: Tespit edilmemiştir.

### 4.3 Enkapsülasyon Verimi

Kaplama malzemesi formülasyonları, MD ve IN'nin farklı oranlarda kullanılmasıyla elde edilmiştir. Bu formülasyonlardan F1; % 30 (w/v) MD, F2; % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN ve F3; % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN'den oluşmaktadır. F1, F2 ve F3 göre elde edilen enkapsüllerin enkapsülasyon verimleri Şekil 4.3'te gösterildiği gibidir.



**Şekil 4.3 :** Formülasyonlara göre enkapsülasyon verimi (%).

(F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN.)

F1 (% 71.53  $\pm$  1.87) formülasyonuna göre elde edilen enkapsülasyon veriminin F2 (% 68.56  $\pm$  1.40) ve F3 (% 66.65  $\pm$  1.34) formülasyonuna göre elde edilen verimlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11). Enkapsülasyonda kullanılan kaplama malzemesinde inülin oranının artmasıyla birlikte enkapsülasyon veriminde düşüş olduğu gözlenmiştir.

Kalita ve diğ. (2018), püskürterek kurutma yönteminin kullanıldığı ve kaplama malzemesi olarak yalnızca maltodekstrin kullanımı ile gerçekleştirilen co-enkapsülasyon işleminde enkapsülasyon veriminin % 75.27 olduğunu ve maltodekstrine pektin ilavesiyle birlikte enkapsülasyon veriminde düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.11** : Formülasyonlara göre elde edilen enkapsülasyon verimi (%).

Formülasyon	Enkapsülasyon verimi (%)
F1	71.53 ± 1.87 <sup>b</sup>
F2	68.56 ± 1.40 <sup>a, b</sup>
F3	66.65 ± 1.34 <sup>a</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-b</sup>: Aynı sütundaki farklı üst simge harfler, enkapsüller arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN.

Upadhyay ve Dass J (2020), kaplama malzemesi olarak % 20 maltodekstrin, % 10 maltodekstrin ile % 10 inülin ve yalnızca % 20 inülini kullandıkları püskürterek kurutulmuş sinbiyotik guava suyu enkapsüllerinde enkapsülasyon verimini sırasıyla % 70, % 68 ve % 65 olarak belirlemiştirler. Başka bir çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsülasyonda kaplama malzemesi olarak maltodekstrin ve inülin kullanımı ile enkapsülasyon veriminin sırasıyla % 47.30 ila % 60.60 ve % 30.42 ila % 38.05 arasında değiştiği belirtilmiştir (Goëlo ve diğ, 2020). Guergoletto ve diğ. (2017), kaplama malzemesi olarak maltodekstrinin kullanımı ile elde edilmiş püskürterek kurutulmuş fermente juçara pulpunda verimi % 57 olarak ifade etmişlerdir.

Maltodekstrin, biyoaktif bileşiklerin stabilitesini sağlama yeteneğine sahip hidrolize bir nişastadır. Düşük viskozite ve yüksek çözünürlük gösteren maltodekstrin, kuruma özelliklerine ve film oluşturma yeteneğine sahip düşük maliyetli bir polisakkarittir. Polisakkaritlerin molekül ağırlıklarının ve ayrıca püskürterek kurutucuya beslenen çözeltilerin viskozitesinin ürün verimi üzerinde etkili olduğu bilinmekle birlikte polisakkaritlerin molekül ağırlığının ve viskozitesinin artışı ile ürün veriminde azalma meydana gelmektedir (Goëlo ve diğ, 2020). Enkapsülasyon verimi, esas olarak katı içeriğinden ve püskürterek kurutucuda sıcak hava giriş sıcaklığından etkilenebilmektedir. Katı içeriği ve sıcak hava giriş sıcaklığı ne kadar yüksek olursa, hızlı kabuk oluşumu meydana gelmekte ve böylece beklenen verim o kadar yüksek olmaktadır (Gharsallaoui ve diğ, 2007). Ayrıca enkapsülasyon verimi üzerinde kaplama malzemesi afinitesinin ve çekirdek malzemenin de etkili olduğu ifade edilmektedir (Flores-Mancha ve diğ, 2020).

#### 4.4 Enkapsülasyon Etkinliği

Probiyotikler, çevresel sıcaklık, oksijen, pH ve bağıl nem gibi bazı üretim değişkenlerine duyarlı canlı mikroorganizmalardır. Püskürterek kurutma işleminde sıcaklık

uygulanması sebebiyle probiyotiklerin canlı hücre sayılarında kayıp yaşanabilmektedir. Çünkü mikroorganizmalar ısı inaktivasyonuna ve dehidrasyona maruz kalmaları nedeniyle önemli ölçüde azalma yaşamaktadır. Ancak probiyotik ürünlerde sadece mikroorganizmaların canlı kalması değil, aynı zamanda ürün içerisinde bulunan canlı hücre sayısı da önemli bir parametreyi oluşturmaktadır.

Dehidrasyon ile bakteri hücrelerinden suyun uzaklaştırılması, hücre bileşenlerine fizyolojik zarar verebilmekte ve hücre zarının yırtılmasına neden olabilmektedir. Aşırı sıcaklık ise, bakteri hücrelerinin protein ve nükleik asit gibi makromoleküllerinin daha yüksek sıralı yapısını açmakta, monomerik birimler arasındaki bağlantıyı koparmakta ve bunun sonucunda monomerlerin yok olmasına neden olarak bakteriyel ölüme yol açmaktadır (Corcoran ve diğ., 2008). Ayrıca, püskürterek kurutma sırasında hücrelerin büyük hacimde hava ile temas etmesi sonucu hücresel membranların lipid oksidasyonu meydana gelmekte ve bu da fiziksel değişikliklere neden olabilmektedir (Corcoran ve diğ., 2004; Fu ve Chen, 2011).

Püskürterek kurutma gibi sıcaklık kullanılan işlemlerde dehidrasyon ile birlikte, giriş/çıkış hava sıcaklıkları, kalma süresi ve besleme hızı gibi kurutma parametrelerine bağlı olarak hücrelerin inaktivasyonu artabilmektedir (Guergoletto ve diğ., 2017). Kurutma işleminden sonra probiyotiklerin canlılığının, paketleme (ambalaj malzemesi, ışık ve oksijen geçirgenliği), depolama koşulları (sıcaklık, bağıl nem ve su aktivitesi) ve uyarılan ozmotik basınç nedeniyle enkapsülün çözünürlüğü gibi farklı faktörlerden etkilendiği bildirilmektedir (Nazari Kermanshahi ve diğ., 2021). Ayrıca kurutma işlemi sırasında probiyotik türü, kurutma sıcaklığı ve besin bileşimi de bakteri durumunu değiştirebilmektedir. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin dehidrasyon hasarı üzerine hücreleri koruduğu ve dehidrasyon sırasında daha düşük ölüm oranına neden olabildiği bildirilmiştir (Teixeira ve diğ., 2014).

Tez çalışmasında farklı formülasyonlarda (F1, F2 ve F3) hazırlanan enkapsüllerde *L. acidophilus* için canlı koloni sayısı üzerinden enkapsülasyon etkinliği belirlenmiş olup değerlendirmede 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde logaritmik olarak canlı koloni sayım sonuçları üzerinden ikinci yöntemde ise canlı koloni sayım sonuçları üzerinden hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Enkapsülasyon işlemi öncesi hazırlanan enkapsülasyon çözeltilerinde ve enkapsülasyon sonrası elde edilen enkapsüllerde bulunan canlı koloniler koloni sayım cihazında sayılmıştır. Çizelge 4.12'de bu 2 yöntem kullanılarak püskürterek kurutuma yöntemi ile kurutma öncesi ve kurutma sonrası koloni

sayım sonuçları üzerinden enkapsülasyon etkinliği sonuçları ifade edilmiştir. Buna göre, püskürterek kurutma işlemi sonucu F1, F2 ve F3 formülasyonlarına göre hazırlanmış olan enkapsüllerde canlı koloni sayısı sırasıyla  $8.32 \pm 0.08$  log kob/mL,  $8.23 \pm 0.03$  log kob/mL ve  $8.24 \pm 0.05$  log kob/mL olarak belirlenmiş olup canlı sayısı bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ ).

Bir ürünün probiyotik sayılması için en az 6.0 log kob/mL olacak seviyede canlı mikroorganizma içermesi gerekmektedir. Elde edilen enkapsüllerde bulunan canlı sayısı, terapötik fayda sağlamak için gerekli olan minimum probiyotik miktarının üzerindedir. F1, F2 ve F3 formülasyonları için enkapsülasyon etkinliği değerleri, birinci hesaplama yöntemine göre sırasıyla %  $98.01 \pm 0.00$ , %  $98.14 \pm 0.06$  ve %  $98.27 \pm 0.06$  olarak belirlenmişken ( $P<0.05$ ) ikinci hesaplama yöntemine göre bu değerler sırasıyla %  $67.77 \pm 0.22$ , %  $69.88 \pm 0.84$  ve %  $71.66 \pm 0.97$  olarak saptanmıştır. 2 farklı hesaplama yönteminden elde edilen sonuçlar incelendiğinde F1 ve F2 formülasyonları ile kıyaslandığında F3 formülasyonu ile elde edilen enkapsüllerin daha yüksek enkapsülasyon etkinliği sergilediği görülmektedir. Burada inülinin probiyotik etkisinin canlılığı etkilemiş olabileceğinden söz edilebilmektedir. Bu bağlamda, *in vitro* gastrointestinal koşullarda ve meyve suyunda stabilite analizlerinde F3 formülasyonuna göre üretilen enkapsüllerin kullanılmasına karar verilmiş olup analizler bu doğrultuda gerçekleştirilmiştir.

Dias ve diğ. (2018), kaplama malzemesi olarak inülin ve maltodekstrin kullanarak çarkıfelek suyu ile *B. animalis* ssp. *lactis* BB-12'nin püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Aynı çalışmada enkapsülasyon etkinliklerinin % 79.11 ila % 86.67 arasında değiştiği ve inülinin kaplama malzemesi formülasyonuna dahil edilmesiyle enkapsülasyon etkinliğinde artış gözlemlendiği ifade edilmiştir. İnülinin probiyotik etkisi bilinmekle birlikte inülin mevcudiyeti ile kurutma işlemine giren hücrelerin hücre zarının bozulması önlenmekte ve dolayısıyla enkapsülasyon sırasında bakterilerin canlı kalması üzerinde olumlu etkisi görülmektedir (Nilsang, 2021). Başka bir çalışmada *L. casei* NRRL B-442 suşunun püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsülasyonunda kaplama malzemesi olarak % 20 maltodekstrin kullanımı ile probiyotiklerin % 77'sinin canlı kaldığı bildirilmiştir (Pereira ve diğ, 2014). Anekella ve Orsat (2013), püskürterek kurutma ile ahududu suyunda probiyotikleri enkapsüle etmişler ve optimize edilmiş koşullarda probiyotiklerin canlı kalma durumunu % 81.17 olarak rapor etmişlerdir. Ghandi ve diğ. (2014), *L. lactis* starter kültürünün püskürterek kurutulması için en iyi giriş ve çıkış hava sıcaklığı değerlerinin sırasıyla 130 °C ve 65 °C olduğunu ifade etmişlerdir.

**Çizelge 4.12 :** Kaplama malzemesi olarak maltodekstrin ve inülin kullanımı ile alıç suyu ve *L. acidophilus*'un püskürterek kurutulmasından önce ve sonra canlı koloni sayısı ve enkapsülasyon etkinliği (%).

<b>Birinci hesaplama yöntemi</b>				
<b>Formülasyon</b>	<b>Canlı koloni sayısı</b>		<b>Logaritmik azalma</b> (log N <sub>0</sub> -log N)	<b>Enkapsülasyon etkinliği</b> (%)
	Kurutma öncesi log N <sub>0</sub> (log kob/mL)	Kurutma sonrası log N (log kob/mL)		
F1	8.49 ± 0.09 <sup>a</sup>	8.32 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.00 <sup>b</sup>	98.01 ± 0.00 <sup>a</sup>
F2	8.39 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	98.14 ± 0.06 <sup>b</sup>
F3	8.39 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	98.27 ± 0.06 <sup>c</sup>
<b>İkinci hesaplama yöntemi</b>				
<b>Formülasyon</b>	<b>Canlı koloni sayısı</b>		<b>Azalma</b> (N <sub>0</sub> - N)	<b>Enkapsülasyon etkinliği</b> (%)
	Kurutma öncesi N <sub>0</sub> (×10 <sup>7</sup> kob/mL)	Kurutma sonrası N (×10 <sup>7</sup> kob/mL)		
F1	31.00 ± 6.00 <sup>a</sup>	21.00 ± 4.00 <sup>a</sup>	10.00 ± 2.00 <sup>a</sup>	67.77 ± 0.22 <sup>a</sup>
F2	24.33 ± 1.53 <sup>a</sup>	17.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	7.33 ± 0.58 <sup>a</sup>	69.88 ± 0.84 <sup>b</sup>
F3	24.67 ± 3.06 <sup>a</sup>	17.67 ± 2.08 <sup>a</sup>	7.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	71.66 ± 0.97 <sup>b</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-c</sup>: Aynı sütundaki farklı üst simge harfler, enkapsüller arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN.

## 4.5 Enkapsüllerde Fiziksel Ölçümler

En yüksek enkapsülasyon etkinliğinin elde edildiği formülasyona (F3) göre alıç suyu içermeyen enkapsül (P3) ve boş enkapsül (BK3) hazırlanmıştır. Fiziksel ölçümler F1, F2, F3, P3 ve BK3 formülasyonlarına göre elde edilen enkapsüllerde gerçekleştirilmiştir.

### 4.5.1 Yoğunluk

Enkapsüllerin yoğunlukları Çizelge 4.13'te incelendiğinde en düşük yoğunluğa ( $0.36 \pm 0.01$  g/mL) sahip enkapsülün BK3 formülasyonu ile elde edilen boş enkapsül olduğu görülmüşken, en yüksek yoğunluğa ( $0.46 \pm 0.02$  g/mL) sahip enkapsülün ise F1 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsül olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). F1, F2 ve F3 formülasyonları değerlendirildiğinde en düşük yoğunluğun ( $0.40 \pm 0.01$  g/mL) kaplama malzemesi olarak % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN kullanımı ile hazırlanan F3 formülasyonunda olduğu saptanmıştır. Kingwatee ve diğ. (2015), çalışmalarında kaplama malzemesi olarak yalnızca maltodekstrini ve maltodekstrin ile inülinin kombinasyonunu kullanmışlar ve yoğunluğun ( $0.42$  g/mL) inülin ilavesiyle üretilen enkapsüllerde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Nem içeriği enkapsüllerde yoğunluğu etkileyebilen bir parametredir. Nem içeriğinin artış göstermesiyle beraber yoğunluk değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Tez çalışması kapsamında edinilen veriler literatür ile benzerlik göstermektedir.

### 4.5.2 Çözünürlük

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi çözünürlüğün kullanılan kaplama malzemesine göre değiştiği ve kaplama malzemesi olarak maltodekstrin ve inülin kullanılarak elde edilen enkapsüllerin bütün üretimlerde % 90'ın üzerindeki değerlere ulaşan oranlarda yüksek çözünürlük özelliği sergiledikleri belirlenmiştir. Nem içeriği ve su aktivitesindeki artış ile birlikte çözünürlüğün arttığı tespit edilmiş ve en düşük çözünürlüğe sahip formülasyonun F1 ( $90.20 \pm 0.65$ ) olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Maltodekstrinin yüksek çözünürlük özelliği sebebiyle püskürterek kurutma işleminde kaplama malzemesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta olduğu ve kurutma işlemi sonrası amorf bir yüzeye sahip olduğu için de enkapsüllerin sudaki çözünürlüğünün arttığı ifade edilmektedir (Guergoletto ve diğ., 2017). F3 formülasyonuna göre hazırlanmış alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülünde (P3) ve boş enkapsülde (BK3) daha yüksek çözünürlük gözlenmiştir. Bu

elde edilen veriler daha kuru tozun daha düşük çözünürlük sergileyebileceğini ifade etmektedir.

#### 4.5.3 Renk

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş enkapsüllerin rengi, tüketiciye hitap etmesi açısından en önemli kriterlerden birisini oluşturmaktadır. Kurutma işlemi sonrası elde edilen enkapsüllere ait görseller Şekil 4.4'te ve edinilen renk indisleri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), Chroma ( $C^*$ ), Hue açısı ( $h^\circ$ ) ve  $\Delta E$  değerleri Çizelge 4.14'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4 : Üretilen enkapsüller.

(F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN, P3: Alıç suyu içermeyen % 15 MD (w/v) ve % 15 (w/v) IN, BK3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içermeyen % 15 (w/v) MD % 15 (w/v) IN).

Çizelge 4.14'e göre, F1, F2 ve F3 formülasyonlarına göre üretilen enkapsüller için  $L^*$  değerlerinin sırasıyla  $94.31 \pm 0.01$ ,  $93.43 \pm 0.05$  ve  $92.22 \pm 0.10$  olduğu tespit edilmiş olup enkapsüllerin parlaklığında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). İnülin ilavesi ile enkapsüllerin parlaklığının daha da azaldığı tespit edilmiştir.  $a^*$  değeri kırmızılığı,  $b^*$  değeri ise sarılığını ifade etmekte olup elde edilen enkapsüller için bu değerlerin önemli ölçüde farklı olduğu sonucu öne çıkan veriler arasındadır ( $P < 0.05$ ). F1, F2 ve F3 formülasyonlarına göre elde edilen enkapsüllerin  $C^*$  değerleri sırasıyla  $8.20 \pm 0.37$ ,  $9.10 \pm 0.24$  ve  $7.33 \pm 0.28$  olarak belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Hue açısının  $90^\circ$ 'ye yaklaşması sarılığın göstergesidir. F1, F2 ve F3 için  $h^\circ$  değerleri sırasıyla  $84.84 \pm 0.46^\circ$ ,  $83.32 \pm 0.20^\circ$  ve  $82.40 \pm 0.13^\circ$  olarak hesaplanmıştır ( $P < 0.05$ ). Enkapsüllerin renk farkı ( $\Delta E$ ) değerlendirildiğinde en yüksek  $\Delta E$  değerinin F1 enkapsüllerinde, en düşük  $\Delta E$

değerinin ise F3 enkapsüllerinde olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). Sonuç olarak üretilen enkapsüllerin (F1, F2 ve F3) renk değerleri incelendiğinde bu enkapsüllerin dahil edilecekleri gıda sistemlerinde ürün rengi üzerine olumsuz etki göstermeyecekleri düşünülmektedir. Nadeem ve diğ. (2011), üretilen enkapsüllerin renklerinin kaplama malzemesinin tipi ve konsantrasyonunun etkilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca enkapsüllerin rengi kaplanacak malzemenin renginden de etkilenmektedir.

#### 4.5.4 Nem içeriği

Enkapsüllerin nem içeriklerinin % 2.55 ila % 3.56 arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13). En düşük nem içeriğine (% 2.55  $\pm$  0.08) sahip olan kapsül formülasyonunun F1 olduğu tespit edilmiştir. Formülasyonda inülin oranının artışına bağlı olarak yoğunluğun azaldığı ancak su aktivitesi ve nem içeriği değerlerinin arttığı belirlenmiştir. İnülinin kaplama malzemesi formülasyonuna ilavesi ile elde edilen enkapsüllerin daha yüksek nem içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Fernandes ve diğ, 2014). Püskürterek kurutulmuş enkapsüllerin nem içeriğinin, depolama stabilitesi açısından % 5 civarında olması gerektiği önerilmektedir (Ghandi ve diğ, 2012). Daha düşük nem içeriğine sahip enkapsüllerde depolama daha uzun süre sağlanmakta fakat düşük nem değerlerine ulaşabilmek için püskürterek kurutma işleminde daha yüksek sıcak hava giriş sıcaklığı uygulaması gerekmektedir. Ancak daha yüksek sıcaklık uygulamaları bakterilerin canlı kalma oranını da azaltmaktadır.

#### 4.5.5 Su aktivitesi

Enkapsüllerin su aktivitesi değerleri Çizelge 4.13'te verilmiştir. Buna göre, farklı formülasyonlara (F1, F2, F3, P3 ve BK3) göre elde edilen enkapsüllerin su aktivitesi değerlerinin birbirlerinden farklılık gösterdiği belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Yalnızca maltodekstrin kullanılarak üretilmiş enkapsüllerin diğer formülasyonlara göre elde edilen enkapsüllere kıyasla daha düşük su aktivitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır ( $P<0.05$ ). Su aktivitesinin düşük olması daha kuru enkapsüllerin elde edildiğini göstermekte olup böylece üretilen enkapsüllerin daha düşük çözünürlük sergileyecekleri de anlaşılmaktadır. Nitekim Çizelge 4.12 incelendiğinde su aktivitesinin ve nem içeriğinin en düşük olduğu formülasyonun F1 olduğu görülmektedir. Kingwatee ve diğ. (2015) enkapsül üretiminde kaplama malzemesi olarak yalnızca maltodekstrin kullandıklarında su aktivitesini 0.240 olarak belirlemişlerken formülasyona inülin ilave ettiklerinde bu değeri 0.260 olarak tespit etmişlerdir. Maltodekstrinin dallanmış yapısı



**Çizelge 4.13 :** Enkapsüllerde bazı fiziksel ölçümler.

Parametreler	Formülasyonlar				
	F1	F2	F3	P3	BK3
Su aktivitesi ( $a_w$ )	$0.155 \pm 0.005^a$	$0.175 \pm 0.005^b$	$0.195 \pm 0.005^c$	$0.218 \pm 0.004^d$	$0.242 \pm 0.001^e$
Yoğunluk (g/mL)	$0.46 \pm 0.02^d$	$0.43 \pm 0.01^{c,d}$	$0.40 \pm 0.01^{b,c}$	$0.38 \pm 0.02^{a,b}$	$0.36 \pm 0.01^a$
Nem içeriği (%)	$2.55 \pm 0.08^a$	$2.74 \pm 0.05^a$	$3.14 \pm 0.08^b$	$3.38 \pm 0.07^{b,c}$	$3.56 \pm 0.14^c$
Çözünürlük (%)	$90.20 \pm 0.65^a$	$91.91 \pm 0.09^b$	$92.88 \pm 0.25^c$	$93.59 \pm 0.33^c$	$94.81 \pm 0.12^d$

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, enkapsüller arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN, P3: Alıç suyu içermeyen % 15 MD (w/v) ve % 15 (w/v) IN, BK3: Alıç suyu ve probiyotik içermeyen % 15 (w/v) MD % 15 (w/v) IN.

**Çizelge 4.14 :** Enkapsüllerde renk değerleri.

Parametreler	Formülasyonlar		
	F1	F2	F3
$L^*$	$94.31 \pm 0.01^c$	$93.43 \pm 0.05^b$	$92.22 \pm 0.10^a$
$a^*$	$0.74 \pm 0.10^a$	$1.06 \pm 0.06^b$	$0.97 \pm 0.02^b$
$b^*$	$8.17 \pm 0.36^b$	$9.04 \pm 0.24^c$	$7.27 \pm 0.28^a$
Chroma ( $C^*$ )	$8.20 \pm 0.37^b$	$9.10 \pm 0.24^c$	$7.33 \pm 0.28^a$
Hue açısı ( $h^\circ$ )	$84.84 \pm 0.46^c$	$83.32 \pm 0.20^b$	$82.40 \pm 0.13^a$
$\Delta E$	$94.67 \pm 0.02^c$	$93.87 \pm 0.02^b$	$92.51 \pm 0.08^a$

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-c</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, enkapsüller arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

F1: % 30 (w/v) MD, F2: % 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN, F3: % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN.

sebebiyle yüksek  $a_w$  ve çözünürlük gösterdiği bilinmekte olup, formülasyona inülinin dahil edilmesiyle  $a_w$  ve çözünürlüğün daha da arttığı önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Fernandes ve diğ, 2014; Paim ve diğ, 2016).

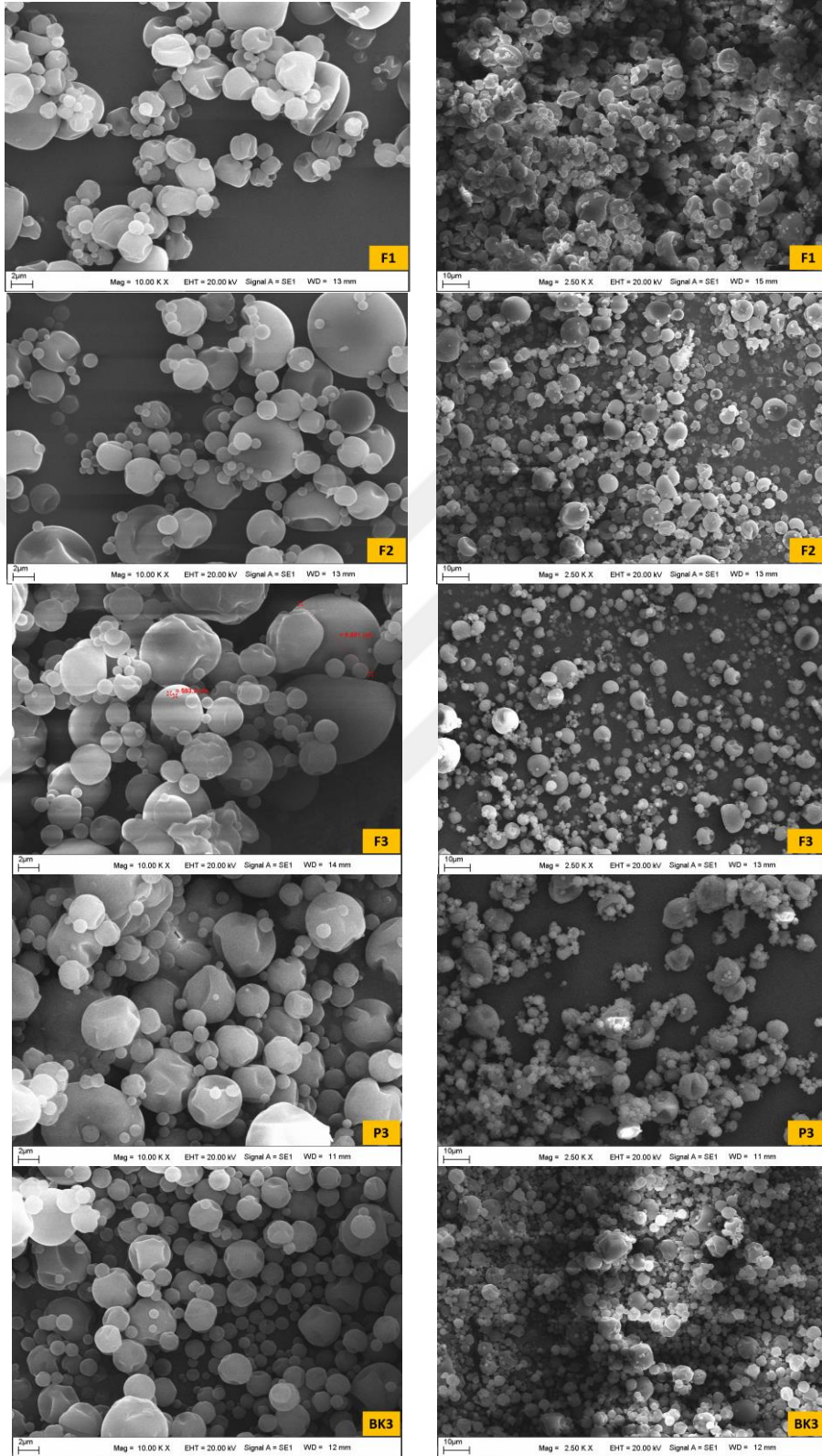
#### 4.5.6 Enkapsüllerin morfolojisi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak, F1 (% 30 (w/v) MD), F2 (% 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN), F3 (% 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN), P3 (Alıç suyu içermeyen % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN) ve BK3 (Alıç suyu ve *L. acidophilus* içermeyen % 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN) enkapsüllerin morfolojileri incelenmiş olup, farklı büyütme oranlarında ( $\times 10000$  ve  $\times 2500$  büyütme) SEM görüntüleri elde edilmiştir. Enkapsüllerin elde edilen morfolojik görüntüleri Şekil 4.5'te verilmiştir.

Sadece maltodekstrinin kaplama malzemesi olarak kullanıldığı F1 formülasyonu ile elde edilen enkapsüllerin farklı boyutlarda olduğu ve yüzeylerinde büzülmelerin görüldüğü belirlenmiştir. F2 ve F3 formülasyonları ile üretilen enkapsüllerin yüzeylerinde F1 formülasyonu ile elde edilen enkapsüllere göre büzülmelerin daha az olduğu belirlenmiştir. İnülinin kaplama malzemesi olarak formülasyona dahil edilmesi ile üretilen enkapsüllerin küresel şekilli, çoğunlukla küçük ama değişik boyutlarda oldukları tespit edilmiştir. F3 formülasyonu ile elde edilen enkapsüller daha homojen boyut dağılımı sergilemektedir. P3 enkapsülleri alıç suyu içermeden üretilmiş olup, bu enkapsüllerin yüzeyinde alıç içeren F3 enkapsüllerine göre daha fazla büzülmelerin olduğu ve boyutlarının değişkenlik sergilediği tespit edilmiştir. BK3 enkapsülleri sadece kaplama malzemesi çözeltisinin püskürterek kurutulması ile elde edilmiştir. BK3 enkapsüllerinde yer yer büzülmelerin gözlemlendiği ancak oldukça homojen boyut dağılımına sahip olduğu saptanmıştır.

Enkapsüllerde boşluk ve çatlak oluşumu genellikle termal etkilerden (kurutmada kullanılan yüksek sıcaklık) dolayı parçacıkların genişmesine, matris malzemesinin kuruma hızına ve viskozitesine bağlı etkilerle ilişkilendirilmektedir (Guergoletto ve diğ, 2017; Colín-Cruz ve diğ, 2019). Pürüzsüzlük ve küresellik enkapsüllerde arzu edilen bir özelliktir, çünkü enkapsül yüzeyinin bütünlüğü, çekirdek malzemenin iyi bir şekilde korunması, su buharı ve oksijenin daha düşük geçirgenliğinin sağlanması için önemlidir (Zanjani ve diğ, 2014; Campos ve diğ, 2015). Ayrıca, enkapsüllerin boyutu ve pürüzsüzlüğü enkapsüllerin çözünürlük ve su aktivitesi gibi özelliklerini ve canlı sayısını da etkileyebilmektedir (Fritzen-Freire ve diğ, 2012). Gharsallaoui ve diğ. (2008), boşluk oluşumunun, kabuk yüzeyinin sertleşmesinden sonra meydana gelen büzülme sürecinin

ardından damlacık içinde sıkışan hava kabarcıklarının genişlemesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.



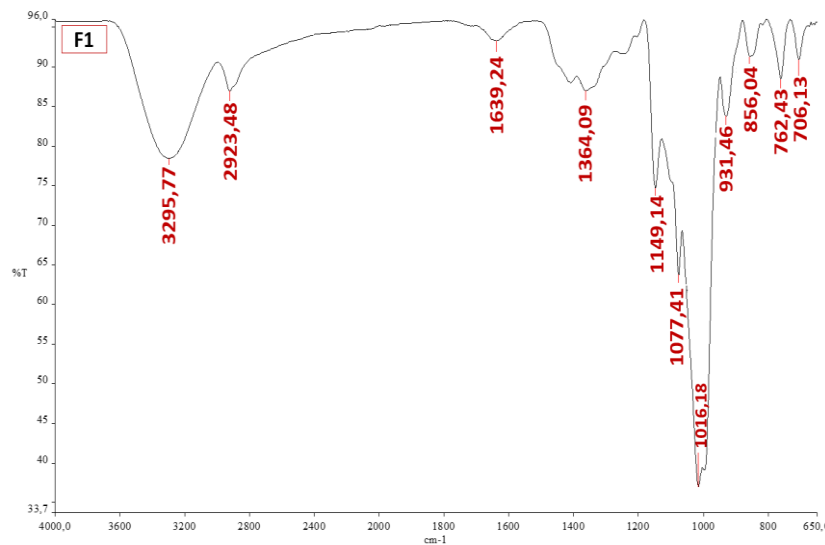
Şekil 4.5 : Farklı kaplama malzemeleri kullanılarak hazırlanmış enkapsüllerin SEM görüntüleri ( $\times 10000$  ve  $\times 2500$  büyütme).

Kingwatee ve diğ. (2015), püskürterek kurutma ile farklı kaplama malzemeleri kullanarak lychee suyunda *L. casei* 01 suşunun enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Aynı çalışmada yalnızca maltodekstrin kullanarak ürettikleri enkapsüllerin bir kısmının yüzeyinin pürüzsüz olduğu, bir kısmının yüzeyinde büzülme ve oyukların tespit edildiği ve düzensiz küresel parçacıklar sergilediğini ifade etmişlerdir. Başka bir çalışmada böğürtlen suyundaki biyoaktif bileşiklerin co-enkapsülasyonunda maltodekstrin kullanarak elde edilen enkapsüllerin kompakt bir mikroyapıda olduğu, büyük boşluklar ve kaba gözenekli bir ağa sahip olduğu bildirilmiştir (Colín-Cruz ve diğ, 2019).

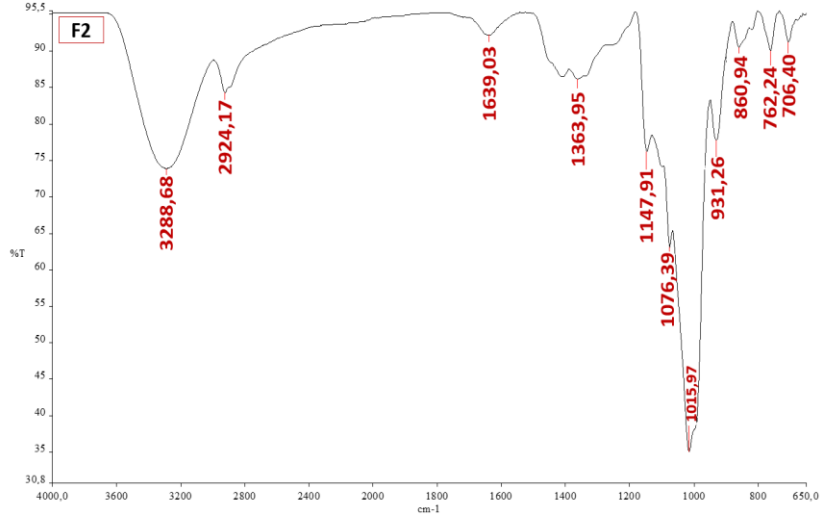
#### 4.5.7 FTIR

Kaplama malzemesi ile alıç suyundan elde edilen bileşikler arasındaki olası etkileşimler için FTIR spektrumları araştırılmıştır. F1, F2 ve F3 formülasyonlarına göre FTIR spektrumları incelendiği gibi alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülleri (P3) ve alıç suyu ve *L. acidophilus* içermeyen enkapsüller (BK3) içinde spektrumlar gözden geçirilmiştir (Şekil 4.6-10).

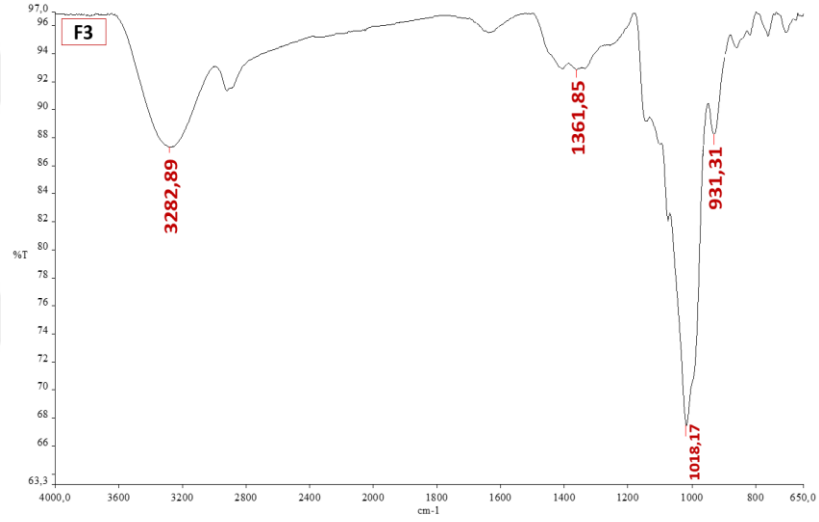
Orta-IR spektrumu 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki spektrumları kapsamaktadır. Bu aralıkta çoğunlukla tek (2500-4000  $\text{cm}^{-1}$ ), çift (1500-2000  $\text{cm}^{-1}$ ) ve üçlü (2000-2500  $\text{cm}^{-1}$ ) bağ yapısı ile parmakizi (600-1500  $\text{cm}^{-1}$ ) bölgesi yer almaktadır. 3250-3650  $\text{cm}^{-1}$  aralığı hidrojen bağı göstergesidir. Bu aralıkta görülen spektrumlar hidrat ( $\text{H}_2\text{O}$ ), hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), amonyum ve amino varlığıyla ilişkilendirilmektedir. 3100-3500  $\text{cm}^{-1}$  aralığı, geniş ve düz tepe selülozik (selüloz, lignin ve odunsu yapılar) yapılarıdaki O-H gerilmelerine aittir.



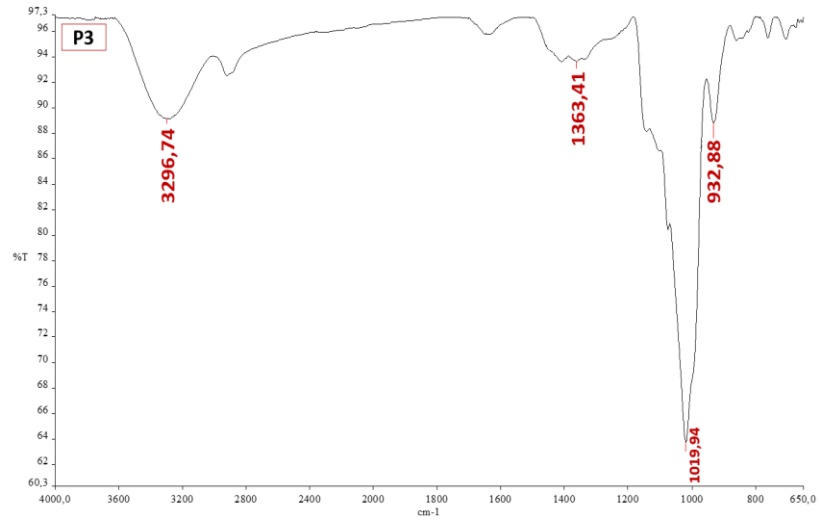
Şekil 4.6 : F1 (% 30 (w/v) MD) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.



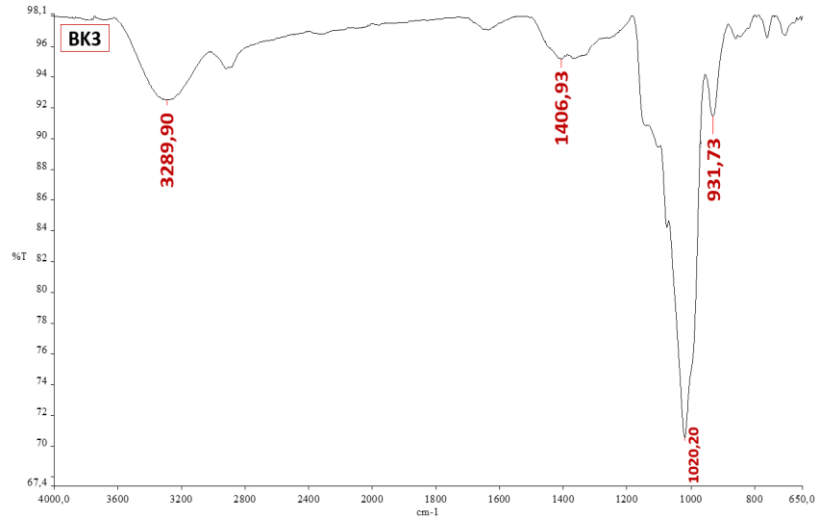
Şekil 4.7 : F2 (% 20 (w/v) MD ve % 10 (w/v) IN) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.



Şekil 4.8 : F3 (% 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN) formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.



Şekil 4.9 : P3 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.



**Şekil 4.10 :** BK3 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüllerin FTIR spektrumu.

Şekil 4.6’da F1 formülasyonuna göre elde edilen enkapsüllerin FTIR spektrumu gösterilmiştir. F1 formülasyonunda kaplama malzemesi olarak yalnızca maltodekstrin kullanılmıştır. Elde edilen spektrum bantlarının  $3295\text{ cm}^{-1}$ ,  $2923\text{ cm}^{-1}$ ,  $1639\text{ cm}^{-1}$ ,  $1364\text{ cm}^{-1}$ ,  $1149\text{ cm}^{-1}$ ,  $1077\text{ cm}^{-1}$ ,  $1016\text{ cm}^{-1}$ ,  $931\text{ cm}^{-1}$ ,  $856\text{ cm}^{-1}$ ,  $762\text{ cm}^{-1}$  ve  $706\text{ cm}^{-1}$ ’de olduğu görülmüştür (Şekil 4.6).  $3295\text{ cm}^{-1}$  bölgesindeki bant, hidroksil gruplarının ( $-\text{OH}$ ) gerilme titreşimine atfedilmekte olup bu bantın güçlü yoğunluğu, maltodekstrin yapısında birçok hidroksil grubunun varlığından ileri gelmektedir.  $2923\text{ cm}^{-1}$  bölgesindeki zayıf yoğunluğa sahip bant, alifatik ve CH gruplarının asimetrik gerilme titreşimine bağlanmaktadır.  $1639\text{ cm}^{-1}$ ’deki bant C–O arasındaki bağlantının asimetrik gerilme titreşimi ile ilişkilidir.  $1200$  ila  $900\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bölgelerdeki absorpsiyonlar, nükleik asitlerde bulunan fosfodioksi grubunun ( $\text{PO}_2^-$ ) simetrik fosfor-oksijen (P-O) gerilme titreşimlerine ve probiyotik hücrelerin hücre zarı glikoproteinlerine ve lipopolisakaritlerine ait polisakaritlerin C-O-C deformasyonunun titreşimine bağlanabilmektedir (Lasta ve diğ., 2021).  $900$  ila  $700\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bantlar, gerçek parmak izi bölgesi olarak adlandırılan bölgede bulunmakla birlikte aromatik amino asitlerin ( tirozin, triptofan, fenilalanin) ve nükleotidlerin aromatik halka titreşimlerinin çok spesifik ve zayıf spektral modellerini içermektedir. Bu bölgedeki absorpsiyonlar, enkapsüle edilmiş probiyotik hücrelerde bulunan hücresel materyalin varlığı ile ilişkili olmaktadır.

Yapılan bir çalışmada maltodekstrinin,  $3395\text{ cm}^{-1}$  (O-H gerilmeleri),  $2932\text{ cm}^{-1}$  (alifatik CH gerilmesi),  $1638\text{ cm}^{-1}$  (amorf bölgede emilen  $\text{H}_2\text{O}$ ),  $1417\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$  bükülmesi),  $1154$  ve  $1079\text{ cm}^{-1}$ ’de (karbonhidratlar için tipik olan C-O-H bükülmesi, C-O

gerilmesi), 1025  $\text{cm}^{-1}$  (karbonhidrat tepe noktası, =CH ve =CH<sub>2</sub> bağlarının açılmal deformasyonu), 931 ve 857  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub> ve C1-H deformasyonu), 762 ve 711  $\text{cm}^{-1}$  (piranoz halkasının yapısal durumu)'de spektrum bantları gösterdiği rapor edilmiştir (Vargas-Muñoz ve Kurozawa, 2020). Bir başka çalışmada ise saf maltodekstrin için, 1652  $\text{cm}^{-1}$  (amorf bölgede emilen H<sub>2</sub>O), 1455  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub> bükülmesi), 1155  $\text{cm}^{-1}$  (C-O-H bükülmesi, C-O gerilmesi), 1017  $\text{cm}^{-1}$  (açılmal deformasyon), 850  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub> ve C1-H deformasyonu), ve 701  $\text{cm}^{-1}$  (piranoz halkasının yapısal durumu)'de spektrum bantlarının olduğu sonucuna varılmıştır (Akbarbaglu ve diğ., 2019). Spektrumların yerlerinde hafif değişikler olması alıç suyu ilavesinden kaynaklanabileceğini ve alıç suyunun pikin yoğunluğunu yumuşattığını düşündürmüştür.

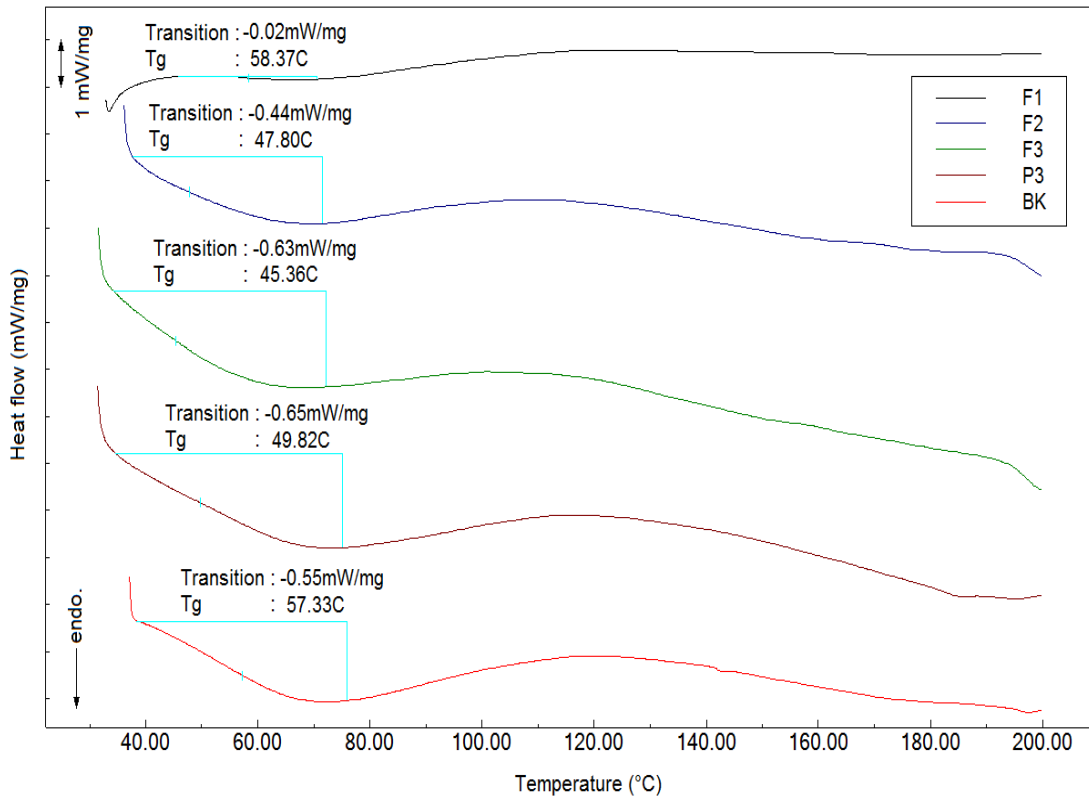
İnülin, 3395  $\text{cm}^{-1}$  (O-H gerilmesi), 2930  $\text{cm}^{-1}$  (C-H gerilmesi), 1642  $\text{cm}^{-1}$  (amorf bölgede emilen H<sub>2</sub>O) ve 1452  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub> bükülmesi) spektrum bantları gösterdiği bilinmektedir (Chehardoli ve diğ., 2020). İnülin katkılı F2 ve F3 örneklerine ait FTIR spektrumlarıyla F1 için verilen spektrum tamamen benzerlik göstermektedir (Şekil 4.6-8). Bu durum maltodekstrin ve inülinin organik yapılarının benzer olması ile açıklanabilmektedir.

P3 enkapsülleri F3 formülasyonunun kaplama malzemesi oranına göre hazırlanmış olan ancak alıç suyu içermeyen sadece *L. acidophilus* içeren enkapsüllerdir. Bu enkapsüllerin FTIR spektrumu Şekil 4.9'da verilmiştir. Buna göre, 3296  $\text{cm}^{-1}$ , 1363  $\text{cm}^{-1}$ , 1019  $\text{cm}^{-1}$  ve 923  $\text{cm}^{-1}$ 'de spektrum bantları olduğu görülmüştür. Bakteri içeren P3 enkapsüllerinde probiyotik bakteri homojen bir yayılım göstermiştir. F1 için verilen piklerin pik genişlikleri ve yüksekliklerinde azalma göze çarpmaktadır. Bu durum bakterinin maltodekstrin yüzeyini kaplaması sonucu yüzeyin fonksiyonelleşmesi esnasında daha az enerji harcanması ile açıklanabilmektedir.

#### 4.5.8 Enkapsüllerin camsı geçiş sıcaklığı

Çalışma kapsamında üretilen enkapsüllerin DSC (Diferansiyel tarama kalorimetresi) analiz sonuçları Şekil 4.11'de verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre enkapsüllerin camsı geçiş sıcaklıkları (T<sub>g</sub>) net olarak görülmektedir. Depolama ve işleme sırasında meyve suyu tozu topaklanma göstermektedir. Suyun partikül yüzeyindeki plastikleştirici etkilerinin bir sonucu olarak kekleşme meydana gelebilmektedir. Kekleşmede yer alan mekanizmalar, camsı geçiş etkileri açısından karakterize edilebilmektedir (Chuy ve Labuza, 1994).

Çalışma sonucunda elde edilen F1, F2, F3, P3 ve BK yapılarının Tg sıcaklıkları sırası ile 58.37 °C, 47.80 °C, 45.36 °C, 49.82 °C ve 57.33 °C olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.11 :** Maltodekstrin temelli enkapsüllerin DSC analiz sonuçları.

Genel olarak yüksek Tg değerleri enkapsül stabilitesi sağlarken, düşük camsı geçiş sıcaklığına (Tg) sahip enkapsüller daha yapışkan özellik göstermektedir (Yousefi ve diğ., 2011). Tg'nin molar kütle ile pozitif olarak ilişkili olduğu bilinmektedir (Truong ve diğ., 2005). Buna göre, alıç suyu katkılı mikrokapsüllerin en düşük Tg sunduğu belirlenmiştir. Bu, enkapsüllerin nispeten düşük sıcaklık değerlerinde kekleşmeye duyarlı olduğunu düşündürmüştür. Ancak maltodekstrin konsantrasyonu arttıkça bu değer 58.37 °C'ye kadar artmıştır. Formülasyondaki maltodekstrin konsantrasyondaki artışın Tg'yi arttırdığı ve böylece kekleşmeyi ve yapışmayı azalttığı sonucuna varılmıştır.

Püskürterek kurutma işleminde sıcak hava giriş sıcaklığının maltodekstrin için 144 °C'den daha yüksek sıcaklıklarda olması durumunda, enkapsülde bulunan besin değeri için hayati önem taşıyan fitokimyasalların büyük oranda azaldığı ve Tg'yi aşarak yapışkanlığı artırma riskini doğurduğu ve bunun da verimi düşürdüğü bilinmektedir (Looi ve diğ., 2019). Stabil formüle edilmiş bir enkapsül üründe Tg'nin, depolama ve nakliye sırasında stabiliteyi sağlamak için 40 °C'den yüksek olması gerektiği ifade edilmektedir (Mestry ve diğ., 2011).



#### 4.6 Enkapsüllerde Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Aktivite

Enkapsülde toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve FRAP) belirlenmesi en yüksek etkinlik değerinin elde edildiği F3 formülasyonuna göre elde edilen enkapsüller için gerçekleştirilmiş olup elde edilen veriler Çizelge 4.15'te verilmiştir. F3 formülasyonuna ait kapsüllerde bulunan toplam fenolik içerik  $0.75 \pm 0.02$  mg GAE/g KA olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite değerleri DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri için sırasıyla  $1.14 \pm 0.02$  mmol TE/kg KA,  $2.74 \pm 0.03$  mmol TE/kg KA ve  $0.09 \pm 0.06$  mmol TE/g YA olarak tespit edilmiştir. Enkapsülasyon formülasyonuna giren alıç suyu ile kıyaslandığında enkapsüllerde toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerlerinin azaldığı görülmüştür.

**Çizelge 4.15 :** Enkapsülde toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri.

Yöntem	Ortalama $\pm$ SH
Toplam fenolik içerik (mg GAE/g KA)	$0.75 \pm 0.02$
DPPH (mmol TE/kg KA)	$1.14 \pm 0.02$
ABTS (mmol TE/kg KA)	$2.74 \pm 0.03$
FRAP (mmol TE/g YA)	$0.09 \pm 0.06$

#### 4.7 *In vitro* Gastrointestinal Koşullarda *L. acidophilus*'un Canlılığı

Probiyotiklerin fonksiyonel bir gıda olarak kullanılabilmesini gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında karşılaştıkları stres koşullarındaki canlı kalma yetenekleri belirlemektedir. Probiyotikler gıdalarla birlikte alınmakta, ağızdan mideye taşınmakta ve ardından alt bağırsağa doğru ilerlemektedir. Mide giriş ve çıkışı arasındaki süre yaklaşık 90 dakikadır (Gul ve Dervisoglu, 2020). Probiyotiklerin sindirim sisteminde karşılaştıkları ilk stres midede başlamaktadır. Probiyotiklerin gastroinrestinal sistemde canlı kalabilmeleri ve bağırsakta faydalı fonksiyonlara sahip olabilmeleri için mide ve ince bağırsakta yaşamaları ve kalın bağırsağa yerleşip çoğalabilmeleri gerekmektedir. Mideden gelen asidik ortam ve enzimlerin yanı sıra duodenuma salgılanan safra tuzları, canlılığın önündeki engelleri oluşturmaktadır (Nilsang, 2021). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmalar, enkapsülasyon teknikleri kullanılarak çevresel koşullara karşı oluşturulan fiziksel bir bariyer ile korunmalıdır (Kailasapathy, 2002).

Yapay gastrik ve intestinal koşullar oluşturulduktan sonra alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerinde (F3) ve alıç suyu içermeyen *L. acidophilus*

enkapsüllerinde (P3) ve bu enkapsüllerin serbest hallerinde (A3 ve S3) bulunan *L. acidophilus* canlılığı belirli sürelerde (0, 30, 60, 90, 120 ve 240 dk) değerlendirilmiş ve edinilen veriler Çizelge 4.16’da ifade edilmiş olup grafiksel gösterimi Şekil 4.12’de belirtilmiştir. Çizelge 4.16 incelendiğinde, enkapsüller (F3 ve P3) ve enkapsülasyon öncesi çözeltiler (A3 ve S3) için 120 dk sonundaki *L. acidophilus* canlılıklarında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). F3 ve P3 enkapsüllerinin yapay gastrik ortamda 120 dk süreyle inkübasyonu sonrası sırasıyla  $7.03 \pm 0.01$  log kob/mL ve  $6.90 \pm 0.03$  log kob/mL canlılığa sahip oldukları belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Çizelge 4.16’da görüldüğü üzere alıç suyu içeren enkapsüllerde ve enkapsülasyon çözeltisinde, alıç suyu içermeyenlere göre daha fazla *L. acidophilus* canlılığının olduğu belirlenmiştir. Başlangıçtaki canlılığın yapay gastrik ortamda azalma gösterdiği belirlenmiş olup bunun yapay gastrik ortamın zorlu koşullarından kaynaklandığı ve asidik ortamın pepsin gibi sindirim enzimlerini harekete geçirdiği bilinmektedir. Bu enzimin amino asitler arasındaki peptit bağını kırabildiği ve böylece probiyotiklerin hücre zarını etkili bir şekilde bozabildiği rapor edilmiştir (Zhu ve diğ, 2020).

**Çizelge 4.16 :** *In vitro* gastrointestinal koşullarda *L. acidophilus* canlılığı (log kob/mL).

Ortam	Süre (dk)	Enkapsüllerdeki canlılık		Çözeltilerdeki canlılık	
		F3 (log kob/mL)	P3 (log kob/mL)	A3 (log kob/mL)	S3 (log kob/mL)
Yapay gastrik ortam	0	$7.54 \pm 0.00^b$	$7.38 \pm 0.03^a$	$7.70 \pm 0.01^d$	$7.60 \pm 0.01^c$
	30	$7.43 \pm 0.00^b$	$7.28 \pm 0.01^a$	$7.52 \pm 0.01^c$	$7.50 \pm 0.01^c$
	60	$7.36 \pm 0.02^b$	$7.20 \pm 0.01^a$	$7.34 \pm 0.02^b$	$7.21 \pm 0.03^a$
	90	$7.18 \pm 0.02^c$	$7.09 \pm 0.01^b$	$7.10 \pm 0.03^b$	$7.01 \pm 0.01^a$
	120	$7.03 \pm 0.01^d$	$6.90 \pm 0.03^c$	$6.81 \pm 0.03^b$	$6.68 \pm 0.02^a$
Yapay intestinal ortam	240	$7.41 \pm 0.01^d$	$7.22 \pm 0.03^c$	$7.01 \pm 0.01^b$	$6.89 \pm 0.01^a$

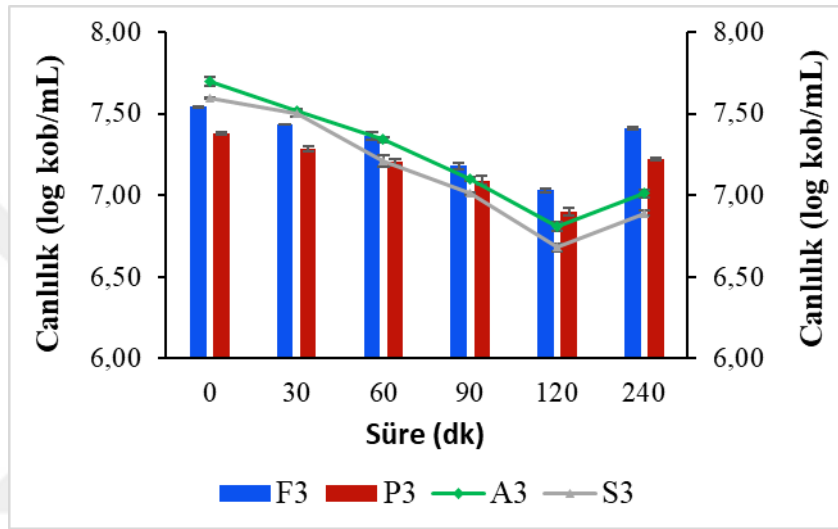
Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P<0.05$ ) göstermektedir. F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek.

Şekil 4.13 incelendiğinde probiyotiklerin yapay gastrik ortamda 120 dk’nın sonunda azalma gösterdiği ancak ardından 120 dk’lık yapay intestinal ortamda *L. acidophilus* canlılığının artış gösterdiği belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Bu durum, midedeki asit şoku nedeniyle bakteri hücrelerinin uyku durumuna geçmesi ve ince bağırsakta pH 6.0’ya ulaştığında büyümelerini yeniden kazandıkları şeklinde ifade edilmiştir (Kalita ve diğ,

2018). Jin ve diğ. (2012), asit stresiyle karşı karşıya kalmanın probiyotiklerin hücre duvarı bütünlüğünü güçlendirdiğini ve hücre zarı geçirgenliğini değiştirdiğini bildirmişler.

Elde edilen F3 ve P3 enkapsüllerinin SEM görüntülerinden de görüldüğü üzere elde edilen enkapsüllerin yüzeyi çoğunlukla pürüzsüzdür (Şekil 4.5). Pürüzsüz kapsül yüzeyi, enkapsüle edilmiş probiyotik sızıntısını azaltmaktadır ve böylece probiyotikler, simüle edilmiş mide suyunun asidik pH'ı gibi zorlu koşullarda daha fazla direnç gösterebilmektedir. Probiyotiklerin intestinal ortamda dahi canlı kalabilmesi, prebiyotik görevi gören inülinin eklenmesine ve alıç suyunun varlığına bağlanabilmektedir.



Şekil 4.12 : Gastrointestinal koşullarda *L. acidophilus*'un canlılığı (log kob/mL).

Peredo ve diğ. (2016), yapay bağırsak ortamından sonra prebiyotik ile birlikte co-enkapsüle edilen probiyotik bakterilerin prebiyotik içermeyen enkapsüllere göre daha yüksek canlılık gösterdiğini bildirmişler. Aynı çalışmada inülinin değişikliğe uğramadan kalın bağırsağa ulaştığını ve inülinin bifidobakteriler ve laktobasiller gibi mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmeye uygun çözünür liflerden olduğunu da rapor etmişler (Peredo ve diğ, 2016). Probiyotikler ve prebiyotiklerin kombinasyonu sinbiyotik olarak bilinmekte ve sinerjik etkiden yararlanmak için gıda ürünlerinde kullanılmaktadır. İnülin gibi prebiyotiklerin jelleşmede sinerjistik olma eğilimi vardır ve böylece bakteri hücreleri için koruma derecesinin iyileştirilmesine ve korunmasına yardımcı olabilmektedir.

Nilsang (2021), maltodekstrin ve inülin kullanarak hazırladıkları mikroenkapsüle *L. casei* TISTR 390 suşunun yapay gastrik ortamda 120 dk süre ile inkübasyonu sonucu canlılığının 5.77-5.88 log kob/g aralığında olduğunu ifade etmiştir. Kalita ve diğ. (2018) çalışmalarında *L. plantarum* ile liçi (*Litchi chinensis* Sonn.) suyunun püskürterek kurutma

yöntemi ile mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişler ve elde ettikleri enkapsülleri ve serbest haldeki *L. plantarum*'u yapay gastrik ve intestinal ortamlarda 120 dk inkübasyona bırakmışlardır. Çalışmada serbest haldeki *L. plantarum*'un hem gastrik hem de intestinal ortama enkapsül forma göre daha duyarlı olduğunu rapor etmişler (Kalita ve diğ, 2018). Başka bir çalışmada kaplama malzemesi olarak % 15 MD ile % 5 IN kullanımında, *L. casei* 01 suşunun gastrik ortamda 60 dakikaya kadar, % 20 MD kullanımında ise sadece 30 dakikaya kadar canlı kalabildiği bildirilmiştir (Kingwatee ve diğ, 2015). Bu durum prebiyotik inülinin mide suyunda probiyotik canlılığı üzerine daha iyi etkileri olduğunu göstermektedir. Probiyotiklerin gastrointestinal koşullara direncinin, bakteri türüne bağlı olmanın yanı sıra, enkapsülasyon tekniğine, kaplama malzemesine veya probiyotiklerin verildiği gıda matrisine bağlı olduğu belirtilmektedir (Maciel ve diğ, 2014).

## **4.8 Elma Suyunda Stabilitenin Belirlenmesi**

### **4.8.1 *L. acidophilus* canlılığı**

Enkapsülasyon etkinliğinin en yüksek olduğu F3 formülasyonuna göre elde edilen kapsüllerin elma suyunda stabiliteilerinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemde elma suyunun depolamada *L. acidophilus* canlılığı üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla iki farklı depolama ortamı (elma suyu ve PSF çözeltisi) tercih edilmiş olup belirtilen sürelerde (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) ve farklı sıcaklıklarda (4 ve 25°C) depolama işlemi uygulanmıştır.

#### **4.8.1.1 Elma suyunda farklı sıcaklıklarda depolama ile *L. acidophilus* canlılığındaki değişim**

Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsülleri (F3) ile alıç suyu olmadan hazırlanmış olan *L. acidophilus* içeren enkapsüllerin (P3) elma suyuna inoküle edilmesi ve depolama sıcaklıklarının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda 84 gün boyunca depolanması sonucunda edinilen veriler Çizelge 4.17'de ifade edilmiştir.

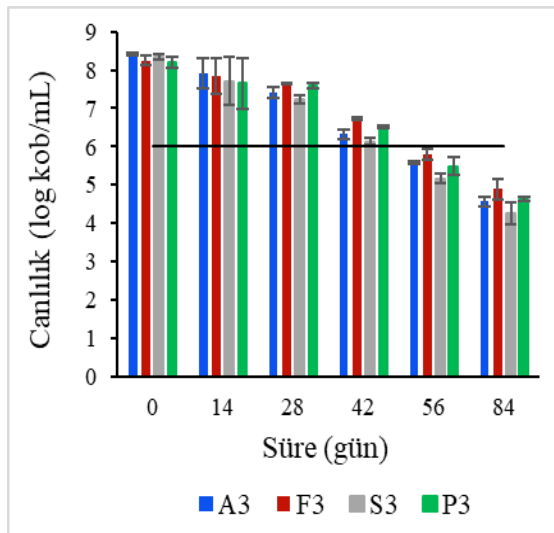
Şekil 4.13-14'de elma suyunda 4 °C'de depolanan *L. acidophilus* canlılığının zamana bağlı değişimi log kob/mL ve % olarak ifade edilmişken 25 °C'de depolanan *L. acidophilus* canlılığının zamana bağlı değişimi log kob/mL ve % olarak Şekil 4.15-16'da gösterilmiştir. Bir gıdada bulunan probiyotiklerin terapötik olarak etkili olabilmesi için ürünlerin raf ömrünün sonuna kadar en az 6 log kob/g bakteri içermesi gerekmektedir (Nilsang, 2021).

**Çizelge 4.17** : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.

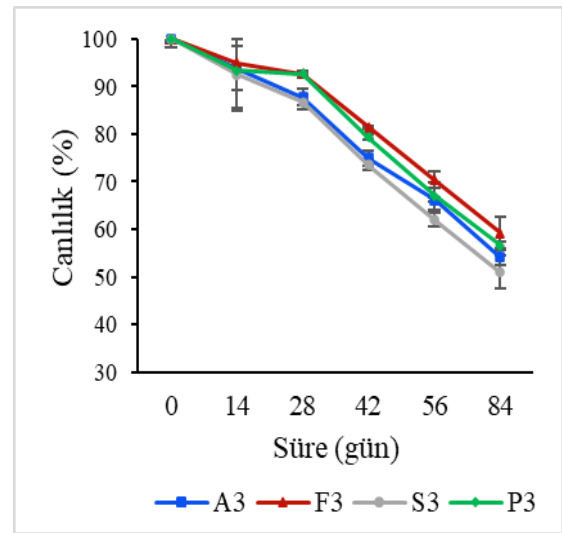
Canlılık (log kob/mL)				
Sıcaklık 4 °C				
Süre (Gün)	A3	F3	S3	P3
0	8.43 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.25 ± 0.14 <sup>a</sup>	8.34 ± 0.06 <sup>a, b</sup>	8.19 ± 0.15 <sup>a</sup>
14	7.91 ± 0.40 <sup>a</sup>	7.84 ± 0.46 <sup>a</sup>	7.71 ± 0.62 <sup>a</sup>	7.65 ± 0.65 <sup>a</sup>
28	7.40 ± 0.14 <sup>b</sup>	7.65 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.23 ± 0.12 <sup>a</sup>	7.59 ± 0.06 <sup>c</sup>
42	6.32 ± 0.11 <sup>b</sup>	6.72 ± 0.02 <sup>d</sup>	6.13 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.50 ± 0.03 <sup>c</sup>
56	5.58 ± 0.02 <sup>b</sup>	5.81 ± 0.12 <sup>c</sup>	5.17 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.49 ± 0.19 <sup>b</sup>
84	4.57 ± 0.11 <sup>b</sup>	4.89 ± 0.22 <sup>c</sup>	4.25 ± 0.24 <sup>a</sup>	4.63 ± 0.05 <sup>b, c</sup>
Sıcaklık 25 °C				
Süre (Gün)	A3	F3	S3	P3
0	8.43 ± 0.04 <sup>c</sup>	8.25 ± 0.14 <sup>a</sup>	8.34 ± 0.06 <sup>a, b</sup>	8.19 ± 0.15 <sup>a</sup>
14	7.79 ± 0.51 <sup>a</sup>	7.73 ± 0.57 <sup>a</sup>	7.68 ± 0.58 <sup>a</sup>	7.63 ± 0.62 <sup>a</sup>
28	7.31 ± 0.24 <sup>a, b</sup>	7.56 ± 0.11 <sup>c</sup>	7.11 ± 0.29 <sup>a</sup>	7.47 ± 0.12 <sup>c</sup>
42	5.45 ± 0.09 <sup>b</sup>	5.84 ± 0.12 <sup>c</sup>	5.19 ± 0.15 <sup>a</sup>	5.55 ± 0.05 <sup>b</sup>
56	4.46 ± 0.02 <sup>b, c</sup>	4.93 ± 0.12 <sup>c</sup>	3.50 ± 0.54 <sup>a</sup>	4.12 ± 0.41 <sup>b</sup>
84	3.41 ± 0.09 <sup>c</sup>	3.87 ± 0.13 <sup>d</sup>	2.62 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.03 <sup>b</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

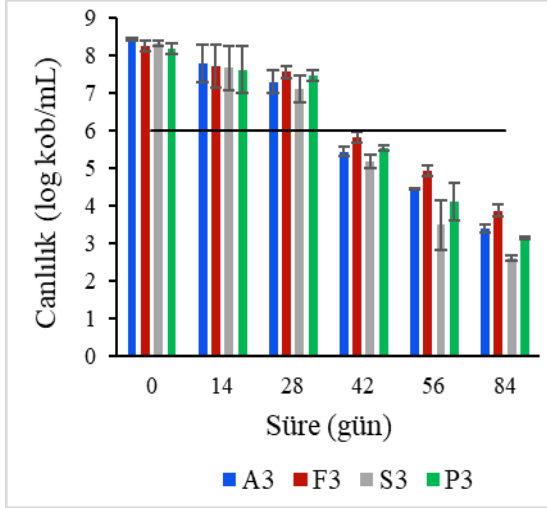
<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir. A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.



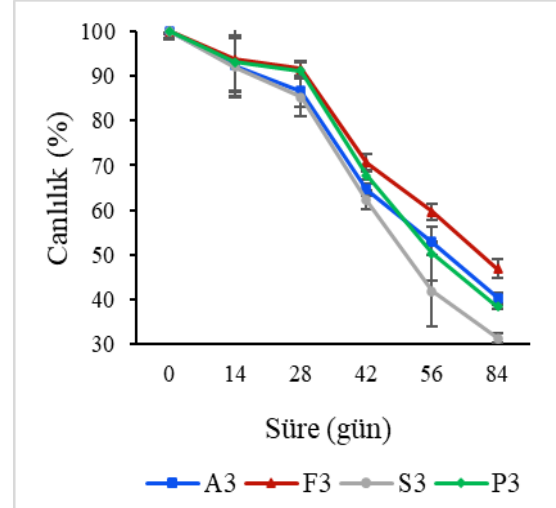
**Şekil 4.13** : 4 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.



**Şekil 4.14** : 4 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) değişimi.



**Şekil 4.15 :** 25 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.



**Şekil 4.16 :** 25 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) değişimi.

Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda elma suyunda depolanan F3 ve A3 örnekleri için 0. günde *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla  $8.25 \pm 0.14$  log kob/mL ve  $8.43 \pm 0.04$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. P3 ve S3 örneklerindeki *L. acidophilus* canlılığı ise sırasıyla  $8.19 \pm 0.15$  log kob/mL ve  $8.34 \pm 0.06$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. Depolamanın 0. ve 14. günlerinde serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerdeki (A3 ve S3) canlılık enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklere (F3 ve P3) kıyasla daha fazla tespit edilmiştir. Depolamanın 28. gününde enkapsülleri içeren örneklerdeki (F3 ve P3) *L. acidophilus* canlılığının serbest haldeki *L. acidophilus* içerenlerden daha fazla olduğu saptanmıştır. Elma suyunda, depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda 42. günde *L. acidophilus* canlılığında önemli bir farklılık tespit edilmiş olup F3 ve P3 enkapsüllerinde canlılık sırasıyla  $6.72 \pm 0.02$  log kob/mL ve  $6.50 \pm 0.03$  log kob/mL olarak belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Enkapsüllerdeki canlılığın serbest haldeki canlılığa oranla daha fazla olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.17). Depolamanın 42. günü de dahil olmak üzere elma suyunda serbest ve enkapsül halde depolanan bütün örnekler için canlılığın terapötik etki gösterecek sınırın (en az 6 log kob/g) üzerinde olduğu görülmüştür (Şekil 4.13). Depolamanın 56. gününden itibaren *L. acidophilus* canlılığının 6 log kob/g’den daha az olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13). Elma suyunda 4 °C’de depolamanın 84. gününde *L. acidophilus* canlılığının yaklaşık % 50 oranında azalması da tespit edilen sonuçlardandır (Şekil 4.14). 84 günün sonunda F3 ve P3 enkapsüllerinde bulunan *L. acidophilus* canlılığı  $4.89 \pm 0.22$  log kob/mL ve  $4.63 \pm 0.05$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. Hazırlanan enkapsüllerin enkapsülasyon

öncesi çözeltilerinin (A3 ve S3) de aynı koşullarda depolaması yapılmış ve enkapsüllerdeki canlılığa göre depolamaya daha duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.17 incelendiğinde, depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda F3, A3, P3 ve S3 örneklerinde 0. günde *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla  $8.25 \pm 0.14$  log kob/mL,  $8.43 \pm 0.04$  log kob/mL,  $8.19 \pm 0.15$  log kob/mL ve  $8.34 \pm 0.06$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 28. gününe kadar serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerdeki canlılığın enkapsül içeren örneklerdeki canlılığa kıyasla daha fazla canlılık içerdiği belirlenmiştir. Bu durumun serbest haldeyken *L. acidophilus*'un şekere daha kolay ulaşabilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda depolamanın 14. ve 28. günlerinde serbest ve enkapsül halde elma suyuna ilave edilmiş *L. acidophilus*'un canlılığında önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Depolamanın 42. gününde canlılığın 6 log kob/g'dan az olduğu saptanmış olup A3, F3, S3 ve P3 için *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla,  $5.45 \pm 0.09$  log kob/mL,  $5.84 \pm 0.12$  log kob/mL,  $5.19 \pm 0.15$  log kob/mL ve  $5.55 \pm 0.05$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.17). Depolamanın sonunda (84. gün) en fazla canlılık alıç suyu içeren F3 örneğinde belirlenmiş olup A3, F3, S3 ve P3 örneklerindeki *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla  $3.41 \pm 0.09$  log kob/mL,  $3.87 \pm 0.13$  log kob/mL,  $2.62 \pm 0.06$  log kob/mL ve  $3.15 \pm 0.03$  olarak tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Depolama sıcaklığı hariç bütün koşulların aynı olduğu şartlarda gerçekleştirilen 25 °C'deki depolamanın 84. gününde 4 °C'de gerçekleştirilen depolamaya göre canlılık 1.02-1.63 log kob/mL aralığında azalma göstermiştir. Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda 42. günde probiyotiklerin terapötik etkileri hala söz konusuysen depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda aynı depolama süresinde böyle bir etkiden söz edilememektedir (Şekil 4.13 ve Şekil 4.15). Depolamanın 56. gününde *L. acidophilus* canlılığı 6 log kob/g'dan az olmakla birlikte örnekler arasında önemli bir farklılık olmadığı sonucuna ulaşılmıştır ( $P>0.05$ ). Elma suyunda, 25 °C'de depolamanın 84. gününde ise *L. acidophilus* canlılığının yaklaşık % 30 oranına kadar azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.16).

#### **4.8.1.2 PSF çözeltilerinde farklı sıcaklıklarda depolama ile *L. acidophilus* canlılığındaki değişim**

Depolama sıcaklığının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda enkapsülasyon öncesi çözeltiler (A3 ve S3) ile enkapsüllerin (F3 ve P3) PSF çözeltilisine inoküle edilmesi ve 84 gün boyunca depolanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.18'de belirtilmiştir.

**Çizelge 4.18 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.

Canlılık (log kob/mL)				
4 °C				
Sıcaklık	4 °C			
Süre (Gün)	A3	F3	S3	P3
0	8.36 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.18 ± 0.22 <sup>a</sup>	8.22 ± 0.11 <sup>a</sup>	8.10 ± 0.29 <sup>a</sup>
14	7.83 ± 0.45 <sup>a</sup>	7.75 ± 0.54 <sup>a</sup>	7.56 ± 0.74 <sup>a</sup>	7.51 ± 0.77 <sup>a</sup>
28	7.17 ± 0.07 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.10 <sup>b</sup>	7.11 ± 0.08 <sup>a</sup>	7.24 ± 0.06 <sup>a</sup>
42	6.04 ± 0.03 <sup>b</sup>	6.40 ± 0.02 <sup>c</sup>	5.78 ± 0.07 <sup>a</sup>	6.09 ± 0.07 <sup>b</sup>
56	4.76 ± 0.10 <sup>a, b</sup>	5.06 ± 0.23 <sup>c</sup>	4.61 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.88 ± 0.13 <sup>b, c</sup>
84	3.76 ± 0.07 <sup>b</sup>	4.11 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.27 ± 0.27 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.28 <sup>b</sup>
25 °C				
Sıcaklık	25 °C			
Süre (Gün)	A3	F3	S3	P3
0	8.36 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.18 ± 0.22 <sup>a</sup>	8.22 ± 0.11 <sup>a</sup>	8.10 ± 0.29 <sup>a</sup>
14	7.63 ± 0.63 <sup>a</sup>	7.51 ± 0.77 <sup>a</sup>	7.50 ± 0.76 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.84 <sup>a</sup>
28	7.08 ± 0.28 <sup>a</sup>	7.39 ± 0.20 <sup>a</sup>	7.01 ± 0.18 <sup>a</sup>	7.12 ± 0.19 <sup>a</sup>
42	4.95 ± 0.18 <sup>a, b</sup>	5.32 ± 0.07 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.24 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.09 <sup>a, b</sup>
56	2.77 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.48 ± 0.17 <sup>c</sup>	2.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.10 <sup>b</sup>
84	0.74 ± 0.04 <sup>b</sup>	2.14 ± 0.11 <sup>d</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	1.80 ± 0.08 <sup>c</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

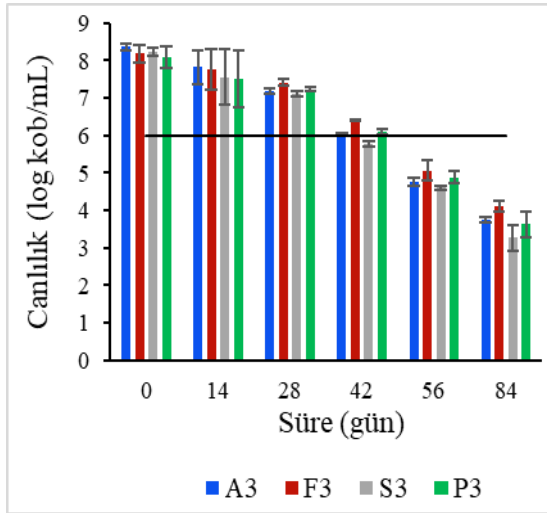
<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir. A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

PSF çözeltisinde depolamanın 0. gününde alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsülleri (F3) ve enkapsülasyon öncesi çözeltisinde (A3) canlılık sırasıyla  $8.18 \pm 0.22$  log kob/mL ve  $8.36 \pm 0.08$  log kob/mL olarak belirlenmiştir. Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülleri (P3) ve enkapsülasyon öncesi çözeltisinde (S3) ise canlılığının sırasıyla  $8.10 \pm 0.29$  log kob/mL ve  $8.22 \pm 0.11$  log kob/mL olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.18). Depolamanın 0. ve 14. günlerinde serbest halde PSF çözeltisine ilave edilmiş *L. acidophilus*, enkapsül halde ilave edilenlere kıyasla daha fazla canlılık göstermiştir ( $P > 0.05$ ). Depolamanın 28. gününde ise diğer örnekler ile kıyaslandığında F3 örneğindeki *L. acidophilus* canlılığında farklılık saptanmış olup ( $P < 0.05$ ) F3 örneğindeki *L. acidophilus* canlılığı  $7.42 \pm 0.10$  log kob/mL olarak belirlenmiştir.

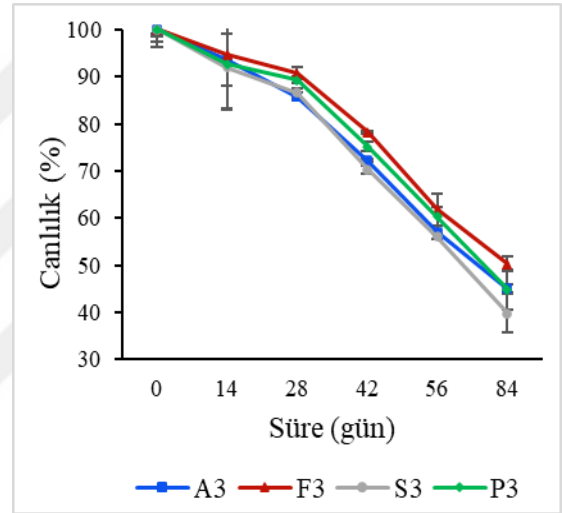
Çizelge 4.18 incelendiğinde, depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda, depolamanın 42. gününde *L. acidophilus* canlılığı F3 ve P3 enkapsüllerinde sırasıyla  $6.40 \pm 0.02$  log kob/mL ve  $6.09 \pm 0.07$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ).



Enkapsüllerdeki canlılığın serbest haldeki canlılığa oranla daha fazla olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda PSF çözeltisinde depolanan *L. acidophilus* canlılığının zamana bağlı değişimi Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de gösterilmiş olup log kob/mL ve % olarak ifade edilmiştir. Şekil 4.17 incelendiğinde depolamanın 56. gününden itibaren *L. acidophilus*’un, 6 log kob/g’den daha az canlılık sergilemiş olduğu anlaşılmaktadır. Depolamanın sonunda A3, F3, S3 ve P3’te bulunan *L. acidophilus* canlılığı sırasıyla  $3.76 \pm 0.07$  log kob/mL,  $4.11 \pm 0.11$  log kob/mL,  $3.27 \pm 0.27$  log kob/mL ve  $3.63 \pm 0.28$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. 4 °C’de depolamanın 84. gününde ise *L. acidophilus* canlılığının yaklaşık % 50-60 oranında azaldığı sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.18).



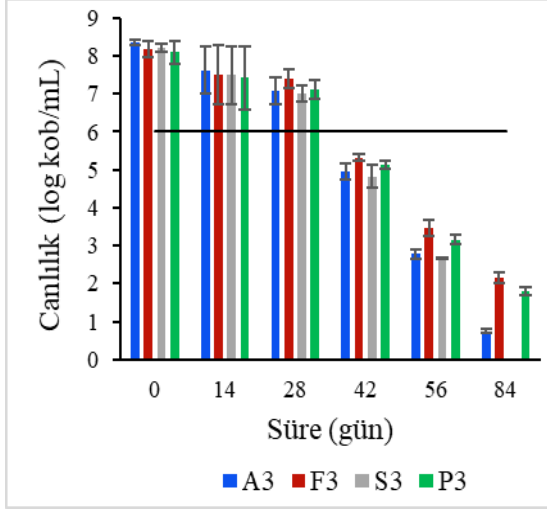
**Şekil 4.17 :** 4 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.



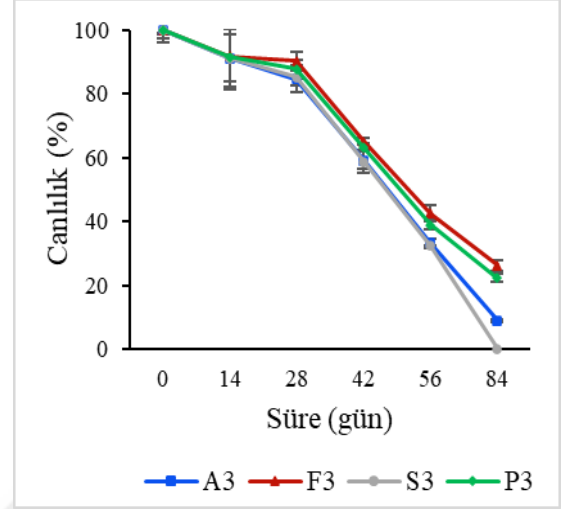
**Şekil 4.18 :** 4 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) değişimi.

Şekil 4.19-20’de PSF çözeltisinde 25 °C’de depolanan *L. acidophilus* canlılığının zamana bağlı değişimi log kob/mL ve % olarak ifade edilmiştir. Serbest ve enkapsül halde PSF çözeltisine ilave edilmiş örneklerdeki *L. acidophilus* canlılığında depolamanın 0, 14, ve 28. günlerinde önemli farklılıklar olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Şekil 4.19 incelendiğinde, depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda, depolamanın 42. gününden sonra *L. acidophilus* canlılığının 6 log kob/g’den daha az olduğu görülmektedir. Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda, PSF çözeltisinde depolamanın 84. gününde *L. acidophilus* canlılığı % 0 ila % 26.15 aralığına kadar bir azalma sergilemiştir (Şekil 4.20). Depolama sıcaklığı hariç bütün koşulların aynı olduğu şartlarda PSF çözeltisinde

gerçekleştirilen 25 °C'deki depolamanın 84. gününde 4 °C'de gerçekleştirilen depolamaya göre canlılık 1.83-3.27 log kob/mL aralığında azalmıştır.



**Şekil 4.19 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (log kob/mL) değişimi.



**Şekil 4.20 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) değişimi.

Depolama sıcaklığının 25 °C olması 4 °C'ye kıyasla canlılıkta daha fazla kayba neden olmuştur (Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18). 25 °C'de depolama sonucu canlılıktaki azalma, enkapsüller içinde metabolik olarak aktif olarak bulunan *L. acidophilus*'un asitler, bakteriyosin gibi metabolitler üretip salgılayabilmesinden veya sahip oldukları hücreleri etkileyecek besin eksikliğine yol açabilmesinden kaynaklanabilmektedir (Pinto ve diğ., 2015). Probiyotiklerin asit içeren ortamlarda (Dave ve Shah, 1997) veya oksijen varlığında (Talwalkar ve Kailasapathy, 2004) depolanmaları sırasında canlılığını kaybettiği bildirilmektedir.

Farklı depolama ortamlarının (elma suyu ve PSF çözeltisi), farklı depolama sıcaklıklarının (4 °C ve 25 °C), farklı depolama sürelerinin (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) ve farklı örneklerdeki (A3, F3, S3 ve P3) *L. acidophilus* canlılığı üzerine etkisinin araştırılmasında varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA, genel doğrusal model (GLM) ile SPSS paket programı aracılığı ile gerçekleştirilmiş olup elde edilen veriler Çizelge 4.19'da verilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × depolama sıcaklığı × süre interaksiyonlarının *L. acidophilus* canlılığı üzerinde önemli derecede etkili olduğu açığa çıkmıştır (Çizelge 4.19).

**Çizelge 4.19 :** Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı *L. acidophilus* canlılığına ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	29.249	333.851	0.000
Depolama sıcaklığı	1	57.134	652.128	0.000
Örnek	3	4.151	47.378	0.000
Depolama süresi	5	257.222	2935.925	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı	1	2.451	27.978	0.000
Ortam × Örnek	3	0.081	0.921	0.431
Ortam × Süre	5	4.969	56.718	0.000
Depolama sıcaklığı × Süre	5	10.994	125.481	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.254	2.900	0.035
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.139	1.581	0.194
Ortam × Örnek × Süre	15	0.130	1.489	0.108
Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.147	1.676	0.055
Ortam × Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.922	10.521	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.086	0.977	0.480
Hata	288	0.088		

Tahmasebian ve diğ. (2020), *L. acidophilus* içeren kızılıçık suyunu 30 °C’de 4 hafta boyunca depolamışlar ve canlılığın bir hafta depolamanın sonucunda  $7.62 \pm 0.07$  log kob/mL olduğunu ancak ikinci haftadan itibaren canlılık gözlenmediğini belirlemişler. AdebayoTayo ve diğ. (2016) probiyotikleri (*Pediococcus pentosaceus* LaG1, *L. rhamnosus* GG ve *P. pentosaceus* LBF2) içeren ananas suyunun fizikokimyasal özelliklerini ve canlılığını değerlendirmişler. Probiyotiklerin canlılığının  $1.05-1.5 \times 10^9$  kob/mL arasında değiştiğini rapor etmişler (AdebayoTayo ve Akpeji, 2016). Bir başka çalışmada üzüm suyuna *B. bifidum*’un serbest ve enkapsül hali eklenmiş ve depolama süresince (35 gün) canlılığı değerlendirilmiştir. Depolamanın sonunda serbest ve enkapsüle *B. bifidum* canlılığında sırasıyla 4.04 log kob/mL ve 1.23 log kob/mL azalma olduğunu rapor etmişler (Afzaal ve diğ, 2020). Depolama sırasında canlılıkta meydana gelen azalma, probiyotik laktik asit bakterilerinin metabolizmasının, organik asit gibi bazı metabolitlerin birikiminin ve meyve suyu numunelerinde bulunan şeker seviyesindeki azalmanın bir sonucu olabilmektedir. Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ancak enkapsül ve serbest halde probiyotik içeren örneklerin dahil edildiği ortamların (elma suyu ve PSF çözeltisi) farklı olduğu göz önünde bulundurulduğunda formülasyonların hepsinde bütün depolama süreleri boyunca ortamın elma suyu olduğu koşullarda *L. acidophilus* canlılığının daha fazla olduğu belirlenmekle birlikte bu durum tespit edilen temel sonucu oluşturmaktadır. Bunun elma suyu bileşimindeki şekerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

#### 4.8.2 Depolamada fizikokimyasal ölçümler

Depolama sıcaklığının 4 °C ve 25 °C olduğu, elma suyunda ve PSF çözeltisinde 84 günlük depolama süresi boyunca örneklerde canlılık belirlenmesi dışında pH, toplam asitlik, °Bx, su aktivitesi ve ΔE’de meydana gelen değişimlerde takip edilmiştir.

##### 4.8.2.1 pH

pH, probiyotik bakterilerin canlı kalması üzerine etkili olan en önemli faktörlerden birisidir. Kontrol, serbest ve enkapsüle *L. acidophilus*’un inoküle edildiği elma suyu örneklerinin farklı sıcaklıklarda (4 °C ve 25 °C), 84 gün boyunca depolanması sonucu meydana gelen pH değişimleri Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.20 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı pH değişimi.

		pH			
Sıcaklık		4 °C			
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	4.36 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>
14	4.35 ± 0.01 <sup>c</sup>	4.22 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.30 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.23 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.30 ± 0.02 <sup>b</sup>
28	4.34 ± 0.01 <sup>c</sup>	4.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.28 ± 0.01 <sup>b</sup>
42	4.33 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.17 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.25 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.18 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.02 <sup>c</sup>
56	4.32 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.16 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.20 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.16 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.02 <sup>c</sup>
84	4.30 ± 0.01 <sup>c</sup>	4.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.20 ± 0.01 <sup>b</sup>
Sıcaklık		25 °C			
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	4.36 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>a</sup>
14	4.35 ± 0.02 <sup>d</sup>	3.53 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.56 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.56 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.64 ± 0.01 <sup>c</sup>
28	4.31 ± 0.01 <sup>d</sup>	3.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.49 ± 0.02 <sup>c</sup>
42	4.30 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.28 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.37 ± 0.02 <sup>c</sup>	3.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.45 ± 0.02 <sup>d</sup>
56	4.28 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.25 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.30 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>d</sup>
84	4.23 ± 0.02 <sup>d</sup>	3.19 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.28 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.02 <sup>c</sup>

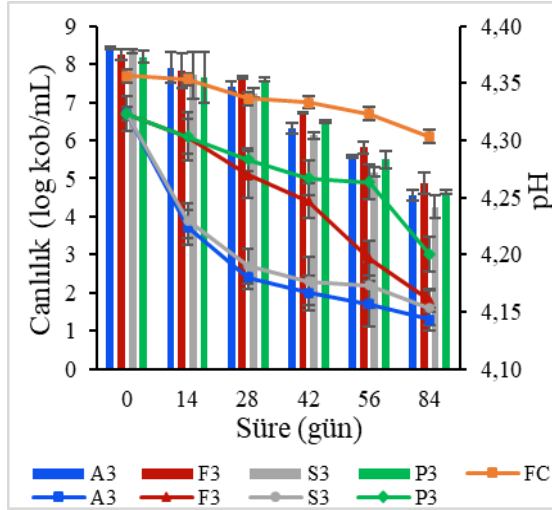
Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

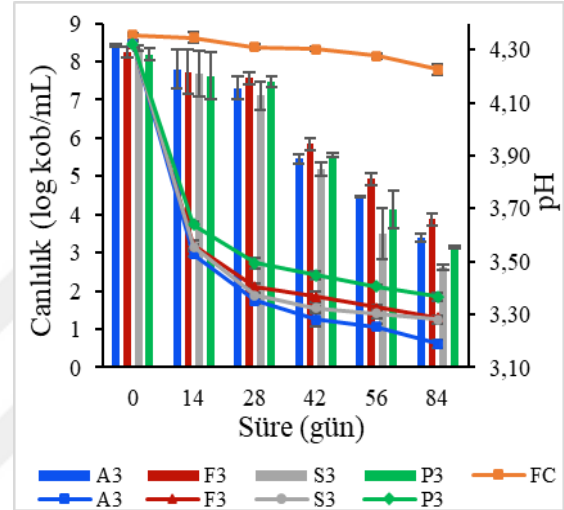
FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Elma suyunun (kontrol, FC) başlangıç pH’ının 4.36 olduğu bilinmekle birlikte 4 °C ve 25 °C’de 84 günlük depolamanın sonunda pH’ın sırasıyla 4.30 ve 4.23’e düştüğü görülmüştür. Örneklerin 84 günlük depolama süreleri incelendiğinde kontrol örneğine ait

pH değerinin örneklerin (A3, F3, S3 ve P3) pH değerlerine göre depolama boyunca daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P<0.05$ ). Farklı depolama sıcaklıklarında 84 günün sonunda pH'ta meydana gelen en az azalma 4 °C'de depolanan P3 örneğinde tespit edilmişken en fazla azalmanın ise 25 °C'de depolanan A3 örneğinde olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.21 ve 4.22'de elma suyunda 4 °C ve 25 °C sıcaklıkta depolama sonucu pH ve *L. acidophilus* canlılığı (log kob/mL) arasındaki ilişki gösterilmiştir.



**Şekil 4.21 :** 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı pH ve canlılık değişimi.



**Şekil 4.22 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı pH ve canlılık değişimi.

Örneklerin PSF çözeltisinde farklı depolama sıcaklıklarında (4 °C ve 25 °C), 84 gün boyunca depolanması sonucu meydana gelen pH değişimleri Çizelge 4.21'de verilmiştir. Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamdaki pH değişimi ile 25 °C olduğu ortamdaki pH değişimi arasında belirgin bir fark olduğu gözlenmiş olup 4 °C'de pH'taki değişimin daha az olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Örneklerin her iki depolama sıcaklığında 84 günlük depolama süreleri incelendiğinde depolama boyunca kontrol örneğine (SC) ait pH değerinin örneklerin (A3, F3, S3 ve P3) pH değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). Depolamanın 84. gününde kontrol örneğinde (SC) meydana gelen pH değişimi depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda 0.41 olarak belirlenmişken 25 °C olduğu ortamda 0.44 olarak saptanmıştır. Elma suyunda depolamada olduğu gibi enkapsül içeren örneklerdeki (F3 ve P3) pH değişimi serbest haldeki örneklere (A3 ve S3) göre daha az değişiklik göstermiştir. Depolama sıcaklığının değişimi ile birlikte pH'ın büyük ölçüde değiştiği ancak 25 °C'de bile olsa en az değişimin enkapsül içeren ortamlarda olduğu tespit

edilmiştir (Çizelge 4.21). Şekil 4.23 ve 4.24’de PSF çözeltisinde 4 °C ve 25 °C sıcaklıkta depolama işlemi sonucu pH ve *L. acidophilus* canlılığı arasındaki ilişki gösterilmiştir.

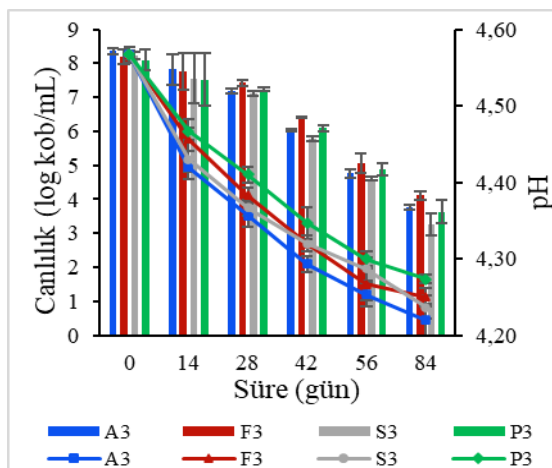
**Çizelge 4.21** : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH değişimi.

pH						
4 °C						
Sıcaklık	4 °C					
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3	
0	7.00 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	
14	6.82 ± 0.02 <sup>c</sup>	4.42 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.46 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.47 ± 0.02 <sup>b</sup>	
28	6.76 ± 0.02 <sup>d</sup>	4.36 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.38 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.37 ± 0.01 <sup>a, b</sup>	4.41 ± 0.01 <sup>c</sup>	
42	6.71 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.29 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.35 ± 0.01 <sup>c</sup>	
56	6.66 ± 0.02 <sup>d</sup>	4.25 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.02 <sup>a, b</sup>	4.29 ± 0.02 <sup>b, c</sup>	4.30 ± 0.02 <sup>c</sup>	
84	6.59 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.22 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.25 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.24 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.27 ± 0.01 <sup>c</sup>	
25 °C						
Sıcaklık	25 °C					
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3	
0	7.00 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.57 ± 0.02 <sup>a</sup>	
14	6.79 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.38 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.45 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.71 ± 0.02 <sup>d</sup>	
28	6.73 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.37 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.59 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.42 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.63 ± 0.01 <sup>d</sup>	
42	6.69 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.35 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.56 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.59 ± 0.01 <sup>d</sup>	
56	6.62 ± 0.02 <sup>e</sup>	3.32 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.51 ± 0.02 <sup>c</sup>	3.40 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.55 ± 0.02 <sup>d</sup>	
84	6.56 ± 0.02 <sup>e</sup>	3.30 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.47 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.37 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.52 ± 0.02 <sup>d</sup>	

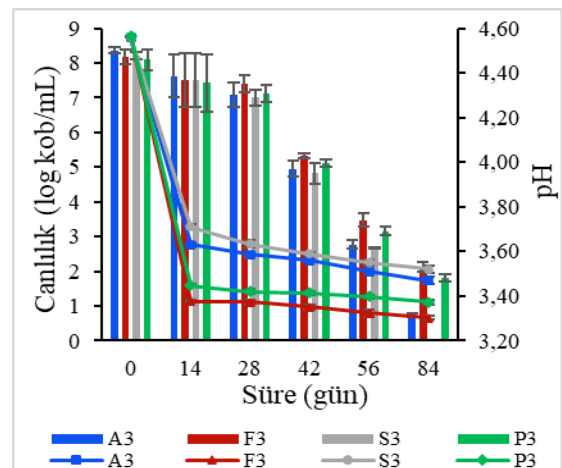
Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

SC: Kontrol (PSF çözeltisi), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.



**Şekil 4.23** : 4 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH ve canlılık değişimi.



**Şekil 4.24** : 25 °C’de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı pH ve canlılık değişimi.

Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'e göre depolamanın 28. gününden itibaren pH'ta belirgin düşüşler olduğu görülmüştür. Bütün örnekler için pH'taki düşüşle birlikte *L. acidophilus* canlılığının da azaldığı görülmüştür. Serbest halde bulunan probiyotik bakterilerin karbonhidratları kullanarak az miktarda organik asit üretebildiği ve böylece depolama sırasında ürünün pH'ını düşürmüş olabildiği rapor edilmiştir (Goderska ve diğ, 2008). Çünkü probiyotiklerin asidik ortamlardaki depolama sırasında canlılığını kaybettiği yaygın olarak kabul edilmektedir. pH'taki düşüş, probiyotik *L. acidophilus*'un metabolik aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Farklı depolama ortamlarının (elma suyu ve PSF çözeltisi), farklı depolama sıcaklıklarının (4 °C ve 25 °C), farklı depolama sürelerinin (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) ve farklı örneklerdeki (A3, F3, S3 ve P3) pH üzerine etkisinin araştırılmasında GLM varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.22'de verilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × örnek, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × depolama sıcaklığı × örnek, ortam × örnek × süre, depolama sıcaklığı × örnek × süre, ortam × depolama sıcaklığı × süre, ortam × depolama sıcaklığı × örnek × süre interaksiyonlarının pH üzerinde önemli derecede etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.22).

**Çizelge 4.22 :** Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı pH'a ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	1.165	13698.873	0.000
Depolama sıcaklığı	1	35.406	416202.465	0.000
Örnek	3	0.029	339.189	0.000
Depolama süresi	5	2.986	35105.375	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı	1	0.011	123.576	0.000
Ortam × Örnek	3	0.111	1304.740	0.000
Ortam × Süre	5	0.042	495.063	0.000
Depolama sıcaklığı × Süre	5	1.422	16714.364	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.053	624.201	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.062	730.216	0.000
Ortam × Örnek × Süre	15	0.005	59.068	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.003	40.407	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.029	336.33	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.003	33.768	0.000
Hata	192	8.507E-5		

Afzaal ve diğ. (2019) tarafından yapılan çalışmada *B. bifidum* serbest ve enkapsül halde üzüm suyuna ilave edilmiş ve pH değişimi değerlendirilmiştir. Otuz beş günlük depolama sonucunda serbest ve enkapsüle probiyotikleri içeren üzüm suları için pH'ın sırasıyla 3.71'den 2.93'e ve 3.74'den 3.24'e düştüğü bildirilmiştir (Afzaal ve diğ, 2020). Bujna ve diğ. (2018) çalışmalarında probiyotik içeren meyve sularının pH'ındaki düşüşün asit üretimi ve bakteri üremesinden kaynaklanabileceğini öne sürmüştür (Bujna ve diğ, 2018). Depolama sırasında meyve sularındaki pH değişikliklerinin olası bir diğer nedeninin ise probiyotikler tarafından indüklenebilen malik asidin laktik aside dönüştürülmesi olduğu düşünülmektedir (Nematollahi ve diğ, 2016). Ayrıca pH'ta meydana gelen bu düşüş, *Lactobacillus*'un antimikrobiyal aktivitesine yol açmakta, fermente gıdaların organoleptik özelliklerinin iyileştirilmesini sağlamakta ve istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini engellemektedir (Vinderola ve Reinheimer, 1999; Caplice ve Fitzgerald 1999).

#### 4.8.2.2 Toplam asitlik

Örneklerin 4 °C ve 25 °C'de depolanmaları sonucu % malik asit cinsinden toplam asitlikte meydana gelen değişimler Çizelge 4.23'te ifade edilmiştir. Kontrol olarak elma suyu kullanılmış olup bu elma suyunda depolama aralıklarında (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) toplam asitlikte meydana gelen değişim değerlendirilmiştir. Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda toplam asitliğin daha fazla geliştiği ancak serbest forma göre enkapsül şeklinde ilave edilenlerde asitlikteki artışın daha az olduğu görülmüştür. pH değeri ile kıyaslandığında pH değeri azaldıkça, toplam asitliğin arttığı belirlenmiş olup bu da potansiyel olarak 84 günlük depolama sırasında örneklerdeki asit miktarının arttığını gösterebilmektedir. Depolamanın 84. gününde kontrol örneğinde toplam asitliğin depolamanın başlangıcına oranla % 0.44 arttığı belirlenmiştir.

Enkapsül olarak elma suyuna ilave edilen örneklerin (F3 ve P3) 4 °C'de 84 gün boyunca depolanması sonucu toplam asitliklerinde önemli bir fark olmadığı ( $P>0.05$ ) ve sırasıyla bu değerlerin  $\% 2.92 \pm 0.07$  ve  $\% 2.83 \pm 0.04$  olduğu tespit edilmiştir. Ancak serbest halde elma suyuna ilave edilen örneklerde (A3 ve S3) yine aynı koşullarda depolama sonucu toplam asitlik değerlerindeki artışın daha fazla olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda örneklerin (FC, A3, F3, S3 ve P3) elma suyunda depolanması sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.23'te gösterilmiştir. Buna



göre, kontrol örneğinde (FC) başlangıçta %  $2.01 \pm 0.04$  olan toplam asitliğin 84. günün sonunda %  $2.72 \pm 0.07$ 'e ulaştığı tespit edilmiştir. Depolama sonunda toplam asitlikteki değişimin serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerde (A3 ve S3) sırasıyla % 1.89 ve % 1.85 olduğu belirlenmişken enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerde (F3 ve P3) ise bu değişimin sırasıyla % 1.75 ve % 1.73 olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ).

**Çizelge 4.23 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı toplam asitlik değişimi.

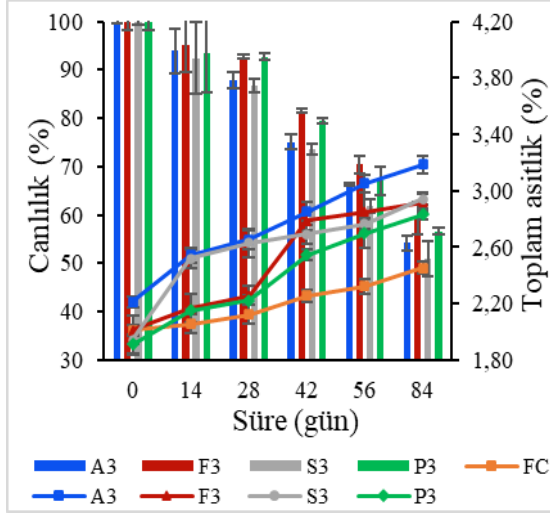
Toplam asitlik (% malik asit)					
Sıcaklık		4 °C			
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	$2.01 \pm 0.04^a$	$2.21 \pm 0.04^b$	$2.01 \pm 0.10^a$	$1.95 \pm 0.10^a$	$1.91 \pm 0.07^a$
14	$2.06 \pm 0.07^a$	$2.54 \pm 0.05^b$	$2.17 \pm 0.10^a$	$2.52 \pm 0.07^b$	$2.15 \pm 0.01^a$
28	$2.12 \pm 0.07^a$	$2.65 \pm 0.07^c$	$2.26 \pm 0.07^b$	$2.63 \pm 0.10^c$	$2.22 \pm 0.03^{a, b}$
42	$2.26 \pm 0.04^a$	$2.85 \pm 0.07^d$	$2.79 \pm 0.07^d$	$2.69 \pm 0.07^c$	$2.54 \pm 0.04^b$
56	$2.32 \pm 0.05^a$	$3.05 \pm 0.06^c$	$2.85 \pm 0.13^b$	$2.76 \pm 0.04^b$	$2.70 \pm 0.10^b$
84	$2.45 \pm 0.04^a$	$3.18 \pm 0.07^d$	$2.92 \pm 0.07^{b, c}$	$2.94 \pm 0.04^c$	$2.83 \pm 0.04^b$
Sıcaklık		25 °C			
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	$2.01 \pm 0.04^a$	$2.21 \pm 0.04^b$	$2.01 \pm 0.10^a$	$1.95 \pm 0.10^a$	$1.91 \pm 0.07^a$
14	$2.12 \pm 0.07^a$	$2.94 \pm 0.04^c$	$2.71 \pm 0.07^b$	$2.88 \pm 0.04^c$	$2.67 \pm 0.02^b$
28	$2.39 \pm 0.07^a$	$3.14 \pm 0.03^d$	$3.00 \pm 0.05^c$	$2.96 \pm 0.02^{b, c}$	$2.89 \pm 0.01^b$
42	$2.41 \pm 0.10^a$	$3.68 \pm 0.10^d$	$3.28 \pm 0.04^b$	$3.44 \pm 0.07^c$	$3.18 \pm 0.07^b$
56	$2.52 \pm 0.07^a$	$3.92 \pm 0.04^c$	$3.55 \pm 0.10^b$	$3.57 \pm 0.07^b$	$3.45 \pm 0.06^b$
84	$2.72 \pm 0.07^a$	$4.10 \pm 0.07^d$	$3.76 \pm 0.05^c$	$3.80 \pm 0.04^c$	$3.64 \pm 0.07^b$

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir.

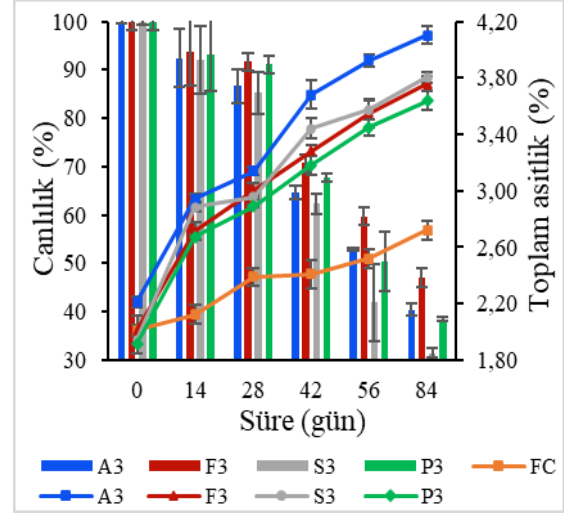
<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Örneklerin farklı depolama sıcaklıkları (4 °C ve 25 °C) ve farklı depolama aralıklarında (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) elma suyunda depolanması sonucu toplam asitlik (%) ve *L. acidophilus* canlılığındaki (%) değişimin grafiksel olarak gösterimleri Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da verilmiştir. Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'dan anlaşılacağı üzere elma suyunda 25 °C'de depolamada toplam asitlikteki artışın 4 °C'de depolamaya göre daha fazla olduğu görülmektedir. Yine asitlikteki artışa bağlı olarak 25 °C'deki *L. acidophilus* canlılığının (%), 4 °C'de depolamaya göre daha fazla azaldığı belirlenmiştir. Depolama sürecinde toplam asitlikteki artışa bağlı olarak canlılığın (%) azalması edinilen sonuçlardandır.



**Şekil 4.25 :** 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi.



**Şekil 4.26 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi.

Çizelge 4.24'te, 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerin PSF çözeltisinde depolanması sonucu edinilen veriler ifade edilmiştir. Buna göre kontrol olarak PSF çözeltisi kullanıldığında toplam asitliğin depolamanın 0. gününde %  $0.42 \pm 0.04$  olduğu tespit edilmişken, depolamanın 84. gününde ise %  $1.02 \pm 0.04$  olduğu belirlenmiştir. Toplam asitlikte % 0.60 oranında bir artış olduğu anlaşılmaktadır. Örnekler enkapsül ve serbest halde değerlendirildiklerinde 84. günün sonunda toplam asitliklerinde önemli bir farklılık olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Kontrol ile kıyaslandığında ise depolamanın sonunda örneklerin ve kontrolün toplam asitliği arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). PSF çözeltisinde bulunan örneklerin 25 °C'de 84 gün boyunca depolanması sonucu zamana bağlı toplam asitlik değişimi incelendiğinde, depolamanın 0. gününe oranla 84. günde kontrol örneğindeki (SC) toplam asitliğin % 0.69 arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.24). Enkapsül olarak PSF çözeltisine ilave edilen örneklerin (F3 ve P3) 25 °C'de 84 gün depolanması sonucu toplam asitliklerinde önemli bir fark olmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiş olup bu değerlerin sırasıyla %  $1.88 \pm 0.04$  ve %  $1.79 \pm 0.07$  olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.24). Ancak serbest halde elma suyuna ilave edilen örneklerde (A3 ve S3) yine aynı koşullarda depolama sonucu toplam asitlik değerlerinin enkapsül içeren örneklere (F3 ve P3) kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de farklı depolama sıcaklıkları ve farklı depolama aralıklarında örneklerin PSF çözeltisinde depolanması sonucu toplam asitlik (%) ve *L. acidophilus* canlılığındaki (%) değişim gösterilmiştir.

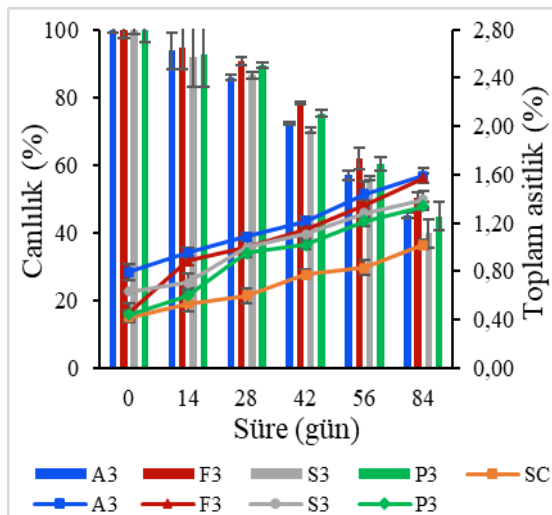
**Çizelge 4.24 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı toplam asitlik değişimi.

Toplam asitlik (% malik asit)					
Sıcaklık	4 °C				
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3
0	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.46 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.04 <sup>a</sup>
14	0.53 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.88 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.07 <sup>a, b</sup>
28	0.60 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.08 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.99 ± 0.07 <sup>b, c</sup>	0.99 ± 0.07 <sup>b, c</sup>	0.95 ± 0.04 <sup>b</sup>
42	0.77 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.22 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.15 ± 0.10 <sup>c</sup>	1.11 ± 0.04 <sup>b, c</sup>	1.02 ± 0.04 <sup>b</sup>
56	0.83 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.44 ± 0.10 <sup>d</sup>	1.35 ± 0.04 <sup>c, d</sup>	1.28 ± 0.04 <sup>b, c</sup>	1.22 ± 0.04 <sup>b</sup>
84	1.02 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.57 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.39 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.34 ± 0.03 <sup>b</sup>
Sıcaklık	25 °C				
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3
0	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.46 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.04 <sup>a</sup>
14	0.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.99 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.08 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.86 ± 0.07 <sup>b</sup>
28	0.89 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.56 ± 0.03 <sup>d</sup>	1.39 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.49 ± 0.02 <sup>d</sup>	1.24 ± 0.04 <sup>b</sup>
42	0.96 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.25 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.55 ± 0.04 <sup>c</sup>	2.17 ± 0.02 <sup>d</sup>	1.46 ± 0.07 <sup>b</sup>
56	1.04 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.49 ± 0.10 <sup>e</sup>	1.72 ± 0.07 <sup>c</sup>	2.32 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.59 ± 0.07 <sup>b</sup>
84	1.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.07 <sup>d</sup>	1.88 ± 0.04 <sup>b</sup>	2.45 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.79 ± 0.07 <sup>b</sup>

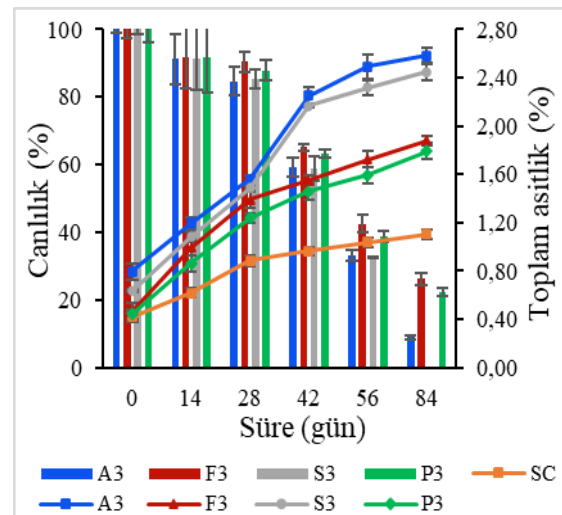
Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

SC: Kontrol (PSF çözeltisi), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.



**Şekil 4.27 :** 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi.



**Şekil 4.28 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı canlılık (%) ve toplam asitlik (%) değişimi.

Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'e göre, elma suyunda olduğu gibi toplam asitliğin 4 °C'de depolamayla kıyaslandığında 25 °C'de daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu toplam asitlikteki artıştan yola çıkarak *L. acidophilus* canlılığının (%), 4 °C'de depolamada daha fazla olduğu ve depolama sürecinde toplam asitlikteki artış ile birlikte canlılığın (%) azaldığı tespit edilmiştir.

Farklı varyans kaynaklarının toplam asitlik üzerine etkisinin araştırılmasında GLM varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.25'te verilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × örnek, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × depolama sıcaklığı × örnek, ortam × örnek × süre, depolama sıcaklığı × örnek × süre, ortam × depolama sıcaklığı × süre, ortam × depolama sıcaklığı × örnek × süre interaksiyonlarının toplam asitlik üzerinde önemli derecede etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.25).

**Çizelge 4.25 :** Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı toplam asitliğe ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	173.151	45645.177	0.000
Depolama sıcaklığı	1	18.886	4978.547	0.000
Örnek	3	2.014	530.942	0.000
Depolama süresi	5	11.413	3008.677	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı	1	0.135	35.527	0.000
Ortam × Örnek	3	0.041	10.908	0.000
Ortam × Süre	5	0.042	495.063	0.000
Depolama sıcaklığı × Süre	5	1.086	286.328	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.053	624.201	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.219	57.746	0.000
Ortam × Örnek × Süre	15	0.035	9.114	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.058	15.183	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.031	8.090	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.014	3.594	0.000
Hata	192	0.004		

Probiyotikler, organik asitleri üretebilmek için şekerleri kullanabilmektedir (Goderska ve diğ., 2008). Genel olarak, *L. acidophilus* suşları tarafından şeker kullanım sırası, glukoz, fruktoz, sukroz, laktoz ve galaktozdur. Tiekling ve diğ. (2005), *L. sanfranciscensis*'in mikrobiyal metabolizma yoluyla fruktozu metabolize ettiğini ve böylece pH'ın düştüğünü ve toplam asitliğin arttığını bildirmişlerdir (Tiekling ve diğ., 2005). Mikrobiyal metabolizma sonucu asetik asit, laktik asit ve karbondioksit gibi yan ürünler

oluşmaktadır. Kumar ve diğ. (2015), mango ve sapota sularına *L. plantarum*'un inokülasyonu sonucunda asit içeriğinde bir artış olduğunu ifade etmişlerdir (Kumar ve diğ, 2015). Organik asit üretiminin yanı sıra asitlik artışının bir başka nedeninin de ölü probiyotik hücrelerden salınan enzimler tarafından indüklenen meyve suyu şekerinin hidrolize edilmesinin olabileceği rapor edilmiştir (Ding ve Shah, 2008). Serbest halde probiyotik içeren meyve suyunda probiyotiklerin meyve suyunda bulunan şekerleri kullanma ve onu aside dönüştürme erişimi olduğu için meyve suyundaki asit artışının probiyotiklerin daha kolay bir şekilde şeker tüketiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Meyve suları, probiyotiklerin tüketebileceği yüksek düzeyde şeker bileşenleri içerdiği için probiyotikler bu şekerleri kullanarak asitlikte artışa sebep olacaktır. Sonuç olarak bu durum meyve suyunun arzu edilen duyuşal profilini değiştirebilmektedir. Probiyotiklerin enkapsülasyonu ile bu kusurların önüne geçilebilmekte ve böylece meyve sularındaki asit üretimi sınırlandırılabilir (Mokhtari ve diğ, 2019).

#### 4.8.2.3 Briks

Örneklerin farklı sıcaklıklarda (4 °C ve 25 °C) depolanması süresince zamana (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) bağlı olarak °Bx değerlerindeki değişimler takip edilmiştir. Depolamanın sonunda şeker tüketiminden kaynaklandığı düşünölen bir °Bx düşüşü gözlenmiştir ( $P<0.05$ ). Enkapsül halde bakteri içeren örneklerde, probiyotiklerin etrafındaki kapsül duvarı matrisi sayesinde çözünür şekerlere probiyotiklerin kolay bir şekilde erişimleri engellenmiştir. Tez çalışması kapsamında asitlik artışına ilişkin edinilen sonuçlar, pH ve °Bx'teki azalmaya ilişkin edinilen sonuçlarla tamamen tutarlılık göstermiştir. Probiyotiklerin enkapsülasyonu ile asitlikteki artışın ve pH ile °Bx'teki düşüşün büyük ölçüde kontrol edilebildiği önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Mokhtari ve diğ, 2019; Afzaal ve diğ, 2020).

Çizelge 4.26'da örneklerin 4 °C ve 25 °C'de elma suyunda depolanması sonucu zamana bağlı °Bx değişimleri gösterilmiştir. Kontrol örneğinde (FC) 84 günlük depolama sonucunda sıcaklığın 4 °C olduğu ortamda 0.2 °Bx'lik bir azalma belirlenmişken 25 °C olduğu ortamda bu azalma 0.4 °Bx olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda sıcaklığın 4 °C olduğu ortamda serbest halde elma suyuna ilave edilen örneklerin (A3 ve S3) °Bx değerlerinin enkapsül halde ilave edilenlere (F3 ve P3) kıyasla daha fazla azaldığı belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda depolamanın 84. gününde serbest halde elma suyuna ilave edilen örneklerin (A3 ve S3) °Bx değerlerinin

enkapsül halde ilave edilenlerle (F3 ve P3) karşılaştırıldığında daha fazla azaldığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Bunun serbest haldeki probiyotiklerin enkapsül haldekilere oranla şekere ulaşmalarının daha kolay olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Çizelge 4.26 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı °Bx değişimi.

°Bx					
4 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	13.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	20.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	13.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	20.0 ± 0.1 <sup>d</sup>
14	13.0 ± 0.1 <sup>a,b</sup>	12.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.8 ± 0.1 <sup>d</sup>	13.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.6 ± 0.2 <sup>c</sup>
28	12.9 ± 0.1 <sup>a,b</sup>	12.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.7 ± 0.1 <sup>d</sup>	13.0 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.6 ± 0.1 <sup>c</sup>
42	12.8 ± 0.0 <sup>a,b</sup>	12.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	12.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.6 ± 0.2 <sup>c</sup>
56	12.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	12.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>d</sup>	12.9 ± 0.1 <sup>c</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>d</sup>
84	12.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	12.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.4 ± 0.1 <sup>c</sup>	12.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>d</sup>
25 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3
0	13.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	20.0 ± 0.0 <sup>d</sup>	13.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	20.0 ± 0.1 <sup>d</sup>
14	13.0 ± 0.1 <sup>b</sup>	12.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.7 ± 0.1 <sup>e</sup>	13.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>d</sup>
28	12.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	12.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.6 ± 0.1 <sup>e</sup>	13.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>d</sup>
42	12.8 ± 0.0 <sup>b</sup>	12.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.6 ± 0.2 <sup>e</sup>	12.8 ± 0.1 <sup>c</sup>	19.4 ± 0.1 <sup>d</sup>
56	12.7 ± 0.1 <sup>c</sup>	12.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.5 ± 0.1 <sup>e</sup>	12.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.4 ± 0.1 <sup>d</sup>
84	12.6 ± 0.0 <sup>c</sup>	12.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	19.3 ± 0.0 <sup>d</sup>	12.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	19.3 ± 0.1 <sup>d</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P<0.05$ ) göstermektedir.

FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Farklı depolama sıcaklıklarında (4 °C ve 25 °C) PSF çözeltisinde örneklerin depolanması sonucu zamana bağlı °Bx değişimi Çizelge 4.27’de verilmiştir. Depolama sıcaklıklarının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda 84 günlük depolama sonucunda kontrol örneğindeki (SC) °Bx değerlerinin sırasıyla 0.1 °Bx ve 0.2 °Bx azaldığı belirlenmiştir. Depolamanın 0. gününde serbest halde PSF çözeltisine ilave edilen örneklerde (A3 ve S3) °Bx değerlerinin enkapsül halde ilave edilenlere (F3 ve P3) kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu enkapsülasyonda kullanılan kaplama malzemelerinin karbonhidrat bileşiminde olmasından ve böylece °Bx’in yükselmesini sağlamasından kaynaklanmaktadır. Depolama süreleri (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) boyunca örneklerin

°Bx değerlerindeki değişimin istatistiksel açıdan önemli derecede farklılık gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.27** : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı °Bx değişimi.

°Bx					
4 °C					
Sıcaklık	SC	A3	F3	S3	P3
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3
0	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.1 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.4 ± 0.1 <sup>d</sup>
14	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.1 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.3 ± 0.1 <sup>d</sup>
28	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.3 ± 0.1 <sup>d</sup>
42	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.2 ± 0.1 <sup>d</sup>
56	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.1 <sup>e</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.2 ± 0.1 <sup>d</sup>
84	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.0 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.1 <sup>e</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.1 ± 0.1 <sup>d</sup>
25 °C					
Sıcaklık	SC	A3	F3	S3	P3
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3
0	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.1 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.4 ± 0.1 <sup>d</sup>
14	1.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	10.0 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.1 ± 0.1 <sup>d</sup>
28	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	9.7 ± 0.1 <sup>e</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	9.1 ± 0.1 <sup>d</sup>
42	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	9.6 ± 0.1 <sup>e</sup>	2.9 ± 0.0 <sup>c</sup>	8.9 ± 0.1 <sup>d</sup>
56	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	9.5 ± 0.2 <sup>e</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>c</sup>	8.8 ± 0.2 <sup>d</sup>
84	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	9.1 ± 0.2 <sup>e</sup>	2.8 ± 0.1 <sup>c</sup>	8.7 ± 0.1 <sup>d</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P<0.05$ ) göstermektedir.

SC: Kontrol (PSF çözeltisi), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Farklı varyans kaynaklarının °Bx üzerine etkisinin araştırılmasında GLM varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.28’de gösterilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × örnek, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × depolama sıcaklığı × örnek, ortam × örnek × süre, depolama sıcaklığı × örnek × süre, ortam × depolama sıcaklığı × örnek × süre interaksiyonlarının °Bx üzerinde önemli derecede etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.28). Ortam × depolama sıcaklığı × süre interaksiyonunun °Bx üzerinde önemli derecede etkili olmadığı elde edilen bir diğer sonuçtur.

Ding ve Shah (2009) çalışmalarında probiyotik bakterilerin karbonhidratları kullandığını ifade etmişlerdir. Tahmasebian ve diğ. (2020), fermantasyon sırasında kızılçık

suyundaki fermente olabilen karbonhidrat miktarının önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir.

**Çizelge 4.28 :** Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı °Bx'e ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	7532.758	1268675.094	0.000
Depolama sıcaklığı	1	1.188	200.146	0.000
Örnek	3	1123.494	189219.998	0.000
Depolama süresi	5	1.299	218.733	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı	1	0.105	17.690	0.000
Ortam × Örnek	3	2.758	464.442	0.000
Ortam × Süre	5	0.030	4.988	0.000
Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.112	18.883	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.324	54.618	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek	3	0.063	10.548	0.000
Ortam × Örnek × Süre	15	0.038	6.379	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.058	9.795	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.012	2.041	0.075
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	0.013	2.141	0.010
Hata	192	0.006		

#### 4.8.2.4 Su aktivitesi

Serbest ve enkapsül halde *L. acidophilus* içeren elma suyunda ve PSF çözeltilisinde depolama süresi boyunca su aktivitesinde meydana gelen değişimler araştırılmış ve edinilen veriler sırasıyla Çizelge 4.29 ve Çizelge 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.29 incelendiğinde, elma suyunda kontrol örneğinin (FC) başlangıçtaki  $a_w$  değeri  $0.970 \pm 0.001$  olarak belirlenmişken depolamanın 84. gününde 4 °C ve 25 °C depolama sıcaklıklarında FC örneğinin  $a_w$  değerleri sırasıyla  $0.960 \pm 0.001$  ve  $0.956 \pm 0.002$  olarak tespit edilmiştir. Serbest halde *L. acidophilus* içeren örnekler (A3 ve S3) ile enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örnekler (F3 ve P3) için  $a_w$  değerleri karşılaştırıldığında enkapsül içeren örneklerde su aktivitesinin daha düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.29). Elma suyunda 4 °C'de depolanan F3 ve P3 enkapsüllerini içeren örneklerin depolama sonunda  $a_w$  değerlerinin sırasıyla  $0.955 \pm 0.001$  ve  $0.959 \pm 0.001$  olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Depolama sıcaklığının 25 °C olduğu durumda F3 ve P3 örnekleri için  $a_w$  değerleri sırasıyla  $0.952 \pm 0.001$  ve  $0.953 \pm 0.001$  olarak tespit edilmiştir. Elma suyunda 4 °C'de 84 günün sonunda A3 ve S3 örnekleri için  $a_w$  değerleri  $0.959 \pm 0.001$  ve  $0.960 \pm 0.002$  olarak belirlenmişken ( $P > 0.05$ ), 25 °C'de 84 günün



sonunda A3 ve S3 örnekleri için  $a_w$  değerleri  $0.958 \pm 0.002$  ve  $0.958 \pm 0.002$  olarak tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ).

**Çizelge 4.29 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı  $a_w$  değişimi.

$a_w$						
4 °C						
Sıcaklık	4 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3	
0	$0.970 \pm 0.001^b$	$0.972 \pm 0.001^b$	$0.967 \pm 0.002^a$	$0.971 \pm 0.001^b$	$0.967 \pm 0.002^a$	
14	$0.967 \pm 0.001^b$	$0.967 \pm 0.001^b$	$0.965 \pm 0.001^a$	$0.969 \pm 0.001^c$	$0.966 \pm 0.001^{a,b}$	
28	$0.966 \pm 0.001^c$	$0.966 \pm 0.001^c$	$0.961 \pm 0.001^a$	$0.966 \pm 0.001^c$	$0.964 \pm 0.001^b$	
42	$0.965 \pm 0.001^b$	$0.965 \pm 0.001^{b,c}$	$0.960 \pm 0.001^a$	$0.966 \pm 0.001^c$	$0.964 \pm 0.001^b$	
56	$0.965 \pm 0.001^c$	$0.963 \pm 0.001^b$	$0.959 \pm 0.001^a$	$0.965 \pm 0.001^c$	$0.961 \pm 0.002^b$	
84	$0.960 \pm 0.001^b$	$0.959 \pm 0.001^b$	$0.955 \pm 0.001^a$	$0.960 \pm 0.002^b$	$0.959 \pm 0.001^b$	
25 °C						
Sıcaklık	25 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3	
0	$0.970 \pm 0.001^b$	$0.972 \pm 0.001^b$	$0.967 \pm 0.001^a$	$0.971 \pm 0.001^b$	$0.967 \pm 0.002^a$	
14	$0.966 \pm 0.001^c$	$0.966 \pm 0.001^{b,c}$	$0.964 \pm 0.001^b$	$0.968 \pm 0.001^d$	$0.963 \pm 0.002^a$	
28	$0.964 \pm 0.001^c$	$0.964 \pm 0.001^c$	$0.957 \pm 0.001^a$	$0.964 \pm 0.001^c$	$0.960 \pm 0.001^b$	
42	$0.962 \pm 0.001^c$	$0.963 \pm 0.001^c$	$0.957 \pm 0.001^a$	$0.963 \pm 0.001^c$	$0.959 \pm 0.001^b$	
56	$0.960 \pm 0.001^{b,c}$	$0.961 \pm 0.001^c$	$0.956 \pm 0.001^a$	$0.959 \pm 0.001^b$	$0.957 \pm 0.002^a$	
84	$0.956 \pm 0.002^b$	$0.958 \pm 0.002^b$	$0.952 \pm 0.001^a$	$0.958 \pm 0.002^b$	$0.953 \pm 0.001^a$	

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P<0.05$ ) göstermektedir.

FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Depolama ortamı olarak kullanılan PSF çözeltisine ilave edilmiş örneklerin 4 °C ve 25 °C depolama sıcaklıklarında  $a_w$  değerleri Çizelge 4.30'da ifade edilmiştir. Kontrol örneğinin (SC) başlangıçtaki  $a_w$  değerinin  $0.978 \pm 0.001$  olduğu tespit edilmişken depolamanın sonunda 4 °C ve 25 °C depolama sıcaklıklarında  $a_w$  değerlerinin sırasıyla  $0.967 \pm 0.002$  ve  $0.965 \pm 0.002$  olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.30). Enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerin (F3 ve P3)  $a_w$  değerlerinin serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerin (A3 ve S3)  $a_w$  değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. PSF çözeltisinde 4 °C'de depolama sonunda (84. gün) F3 ve P3 örnekleri için  $a_w$  değerleri  $0.962 \pm 0.002$  ve  $0.964 \pm 0.002$  olarak belirlenmişken ( $P>0.05$ ), 25 °C'de 84 günün sonunda F3 ve P3 örnekleri için  $a_w$  değerleri  $0.960 \pm 0.002$  ve  $0.960 \pm 0.002$  olarak tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ).

Enkapsül içeren örneklerin enkapsülasyon işleminde kullanılan maltodekstrin ve inülinin varlığı ile  $a_w$  değerlerinde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir.

**Çizelge 4.30 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı  $a_w$  değişimi.

$a_w$						
4 °C						
Sıcaklık	SC	A3	F3	S3	P3	
Süre (Gün)						
0	0.978 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.978 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.973 ± 0.001 <sup>a</sup>	
14	0.973 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.974 ± 0.001 <sup>b,c</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.971 ± 0.001 <sup>a</sup>	
28	0.972 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.972 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.966 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.971 ± 0.002 <sup>b,c</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>b</sup>	
42	0.970 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.965 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.967 ± 0.001 <sup>b</sup>	
56	0.969 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.969 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.964 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.969 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.966 ± 0.001 <sup>b</sup>	
84	0.967 ± 0.002 <sup>c</sup>	0.966 ± 0.002 <sup>b,c</sup>	0.962 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.966 ± 0.001 <sup>b,c</sup>	0.964 ± 0.002 <sup>a,b</sup>	
25 °C						
Sıcaklık	SC	A3	F3	S3	P3	
Süre (Gün)						
0	0.978 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.978 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.973 ± 0.001 <sup>a</sup>	
14	0.974 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.974 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.976 ± 0.001 <sup>d</sup>	0.972 ± 0.001 <sup>b</sup>	
28	0.971 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.972 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.969 ± 0.002 <sup>a,b</sup>	0.972 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.967 ± 0.001 <sup>a</sup>	
42	0.970 ± 0.000 <sup>b</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.966 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.966 ± 0.001 <sup>a</sup>	
56	0.969 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.969 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.965 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.969 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.964 ± 0.001 <sup>a</sup>	
84	0.965 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.968 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.960 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.966 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.960 ± 0.002 <sup>a</sup>	

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-d</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

SC: Kontrol (PSF çözeltisi), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Farklı varyans kaynaklarının  $a_w$  üzerine etkisinin araştırılmasında GLM varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.31’de ifade edilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × örnek, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × örnek × süre, depolama sıcaklığı × örnek × süre, ortam × depolama sıcaklığı × süre, ortam × depolama sıcaklığı × örnek × süre interaksiyonlarının °Bx üzerinde önemli derecede etkili olduğu sonucu çıkarılmıştır (Çizelge 4.31). Ortam × depolama sıcaklığı × örnek interaksiyonunun  $a_w$  üzerinde önemli derecede etkili olmadığı elde edilen bir diğer sonucu oluşturmaktadır (Çizelge 4.31).

**Çizelge 4.31** : Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı  $a_w$ 'e ait varyans analizi sonuçları.

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	0.003	3224.544	0.000
Depolama sıcaklığı	1	0.000	117.965	0.000
Örnek	3	0.000	375.057	0.000
Depolama süresi	5	0.001	854.790	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı	1	9.339E-5	93.714	0.000
Ortam × Örnek	3	5.458E-6	5.477	0.000
Ortam × Süre	5	4.622E-6	4.638	0.001
Depolama sıcaklığı × Süre	5	0.112	18.883	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek	3	1.359E-5	13.640	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek	3	2.389E-6	2.397	0.069
Ortam × Örnek × Süre	15	5.100E-6	5.118	0.000
Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	2.779E-6	2.788	0.001
Ortam × Depolama sıcaklığı × Süre	5	1.267E-6	55.120	0.000
Ortam × Depolama sıcaklığı × Örnek × Süre	15	1.908E-6	1.915	0.024
Hata	192	9.965E-7		

#### 4.8.2.5 Toplam renk farkı ( $\Delta E$ )

Kontrol olarak kullanılan örnekler (elma suyu ve PSF çözeltisi) ile kapsül (F3 ve P3) ve serbest (A3 ve S3) halde *L. acidophilus* içeren örneklerin depolama boyunca farklı depolama sıcaklıklarında  $\Delta E$  değerleri,  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  indisleri açısından analiz edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi Çizelge 4.32'de gösterilmiştir. Depolama sıcaklıklarının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda 84 günlük depolama sonucunda kontrol (FC) örneklerinin  $\Delta E$  değerlerinin sırasıyla 3.27 ve 4.05 olmak üzere farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.32). Bu, depolama koşullarının 25 °C olması durumunda kontrol örneklerinde rengin daha fazla değiştiğini ve parlaklığın azaldığını göstermektedir.

Örneklerin  $\Delta E$  değerlerine depolama sıcaklığının etkisi incelendiğinde, depolamanın başlangıcında enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerin (F3 ve P3) serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerden (A3 ve S3) daha yüksek  $\Delta E$  değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda 0. gün için A3, F3, S3 ve P3 örneklerine ait  $\Delta E$  değerleri sırasıyla  $94.61 \pm 0.05$ ,  $95.47 \pm 0.10$ ,  $94.46 \pm 0.14$  ve  $95.50 \pm 0.11$  olarak tespit edilmiştir. Bunun üretilen enkapsüllerin beyaza yakın renkte olmasından ve elma suyuna ilavesi sonrası rengi açmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolamanın ilerleyen zaman aralıklarında  $\Delta E$  değerlerinde azalmalar

gözlenmiş olup özellikle 84. günde kontrol olan elma suyu ile diğer örnekler kıyaslandığında bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.32 :** Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.

$\Delta E$						
4 °C						
Sıcaklık	4 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3	
0	94.83 ± 0.06 <sup>b</sup>	94.61 ± 0.05 <sup>a</sup>	95.47 ± 0.10 <sup>c</sup>	94.46 ± 0.14 <sup>a</sup>	95.50 ± 0.11 <sup>c</sup>	
14	94.36 ± 0.47 <sup>b</sup>	93.59 ± 0.01 <sup>a</sup>	93.40 ± 0.55 <sup>a</sup>	93.68 ± 0.10 <sup>a</sup>	93.50 ± 0.03 <sup>a</sup>	
28	94.16 ± 0.06 <sup>c</sup>	92.81 ± 0.30 <sup>b</sup>	91.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	92.49 ± 0.06 <sup>b</sup>	92.74 ± 0.24 <sup>b</sup>	
42	93.20 ± 0.03 <sup>d</sup>	91.92 ± 0.18 <sup>c</sup>	90.77 ± 0.01 <sup>a</sup>	91.43 ± 0.11 <sup>b</sup>	91.92 ± 0.03 <sup>c</sup>	
56	92.46 ± 0.22 <sup>d</sup>	91.25 ± 0.02 <sup>c</sup>	90.18 ± 0.02 <sup>a</sup>	90.72 ± 0.31 <sup>b</sup>	91.14 ± 0.03 <sup>c</sup>	
84	91.56 ± 0.06 <sup>e</sup>	90.72 ± 0.04 <sup>d</sup>	89.78 ± 0.02 <sup>a</sup>	90.11 ± 0.06 <sup>b</sup>	90.22 ± 0.01 <sup>c</sup>	
25 °C						
Sıcaklık	25 °C					
Süre (Gün)	FC	A3	F3	S3	P3	
0	94.83 ± 0.06 <sup>b</sup>	94.61 ± 0.05 <sup>a</sup>	95.47 ± 0.10 <sup>c</sup>	94.46 ± 0.14 <sup>a</sup>	95.50 ± 0.11 <sup>c</sup>	
14	94.77 ± 0.19 <sup>d</sup>	94.48 ± 0.01 <sup>c</sup>	93.91 ± 0.13 <sup>b</sup>	93.86 ± 0.03 <sup>b</sup>	92.69 ± 0.04 <sup>a</sup>	
28	92.56 ± 0.09 <sup>a</sup>	93.61 ± 0.23 <sup>b</sup>	92.54 ± 0.15 <sup>a</sup>	92.38 ± 0.05 <sup>a</sup>	92.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	
42	92.05 ± 0.13 <sup>b</sup>	91.13 ± 0.40 <sup>a</sup>	91.81 ± 0.04 <sup>b</sup>	90.81 ± 0.00 <sup>a</sup>	92.11 ± 0.01 <sup>b</sup>	
56	91.40 ± 0.11 <sup>c</sup>	90.89 ± 0.02 <sup>b</sup>	90.94 ± 0.00 <sup>b</sup>	89.50 ± 0.07 <sup>a</sup>	91.42 ± 0.03 <sup>c</sup>	
84	90.78 ± 0.09 <sup>c</sup>	90.18 ± 0.03 <sup>c</sup>	90.08 ± 0.06 <sup>b</sup>	88.97 ± 0.00 <sup>a</sup>	90.34 ± 0.01 <sup>d</sup>	

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P<0.05$ ) göstermektedir.

FC: Kontrol (Elma suyu), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Farklı sıcaklıklarda (4 °C ve 25 °C) depolanan serbest (A3 ve S3) ve enkapsüle (F3 ve P3) *L. acidophilus* içeren örneklerin PSF çözeltisinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi Çizelge 4.33’de gösterilmiştir. Depolama ortamı olarak PSF çözeltisinin kullanımı ile depolamanın 0. gününde kontrol örneğinde (SC)  $\Delta E$  değeri  $95.90 \pm 0.05$  olarak belirlenmişken, 84. gününde depolama sıcaklığının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda SC örneğinde  $\Delta E$  değerleri  $91.14 \pm 0.04$  ve  $90.94 \pm 0.05$  olarak tespit edilmiştir. Enkapsül ilavesi ile başlangıçta daha yüksek olan  $\Delta E$  değerinin depolama boyunca zamana bağlı olarak azaldığı saptanmıştır. Depolama sıcaklığının 4 °C olduğu ortamda depolama sonunda A3, F3, S3 ve P3 örneklerine ait  $\Delta E$  değerleri sırasıyla  $91.82 \pm 0.03$ ,  $90.14 \pm 0.00$ ,  $90.77 \pm 0.02$  ve  $90.78 \pm 0.02$  olarak tespit edilmişken, 25 °C olduğu ortamda depolama sonunda A3, F3, S3 ve P3 örneklerine ait  $\Delta E$  değerleri sırasıyla  $89.16 \pm 0.02$ ,  $88.70 \pm 0.05$ ,  $88.78 \pm 0.02$  ve  $89.17 \pm 0.07$  olarak belirlenmiştir. Depolama koşullarının 25 °C olması durumunda

örneklere (A3, F3, S3 ve P3) ait  $\Delta E$  değerlerinin daha fazla değiştiği ve parlaklığın zamanla azaldığı sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.33).

**Çizelge 4.33** : Farklı sıcaklıklarda depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.

$\Delta E$						
4 °C						
Sıcaklık	4 °C					
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3	
0	95.90 ± 0.05 <sup>c</sup>	95.42 ± 0.42 <sup>b</sup>	96.76 ± 0.07 <sup>d</sup>	94.85 ± 0.12 <sup>a</sup>	95.88 ± 0.10 <sup>c</sup>	
14	95.27 ± 0.20 <sup>c</sup>	94.56 ± 0.02 <sup>b</sup>	95.94 ± 0.22 <sup>d</sup>	93.26 ± 0.21 <sup>a</sup>	94.54 ± 0.18 <sup>b</sup>	
28	94.58 ± 0.07 <sup>d</sup>	93.95 ± 0.27 <sup>c</sup>	93.26 ± 0.12 <sup>b</sup>	92.98 ± 0.07 <sup>a</sup>	93.90 ± 0.02 <sup>c</sup>	
42	94.34 ± 0.01 <sup>d</sup>	93.13 ± 0.06 <sup>b</sup>	92.14 ± 0.03 <sup>a</sup>	92.37 ± 0.37 <sup>a</sup>	93.50 ± 0.01 <sup>c</sup>	
56	92.36 ± 0.16 <sup>c</sup>	92.92 ± 0.51 <sup>d</sup>	91.52 ± 0.06 <sup>a</sup>	91.81 ± 0.04 <sup>a, b</sup>	92.20 ± 0.01 <sup>b, c</sup>	
84	91.14 ± 0.04 <sup>c</sup>	91.82 ± 0.03 <sup>d</sup>	90.14 ± 0.00 <sup>a</sup>	90.77 ± 0.02 <sup>b</sup>	90.78 ± 0.02 <sup>b</sup>	
25 °C						
Sıcaklık	25 °C					
Süre (Gün)	SC	A3	F3	S3	P3	
0	95.90 ± 0.05 <sup>c</sup>	95.42 ± 0.42 <sup>b</sup>	96.76 ± 0.07 <sup>d</sup>	94.85 ± 0.12 <sup>a</sup>	95.88 ± 0.10 <sup>c</sup>	
14	95.56 ± 0.27 <sup>d</sup>	92.27 ± 0.25 <sup>a</sup>	95.87 ± 0.08 <sup>c</sup>	93.68 ± 0.02 <sup>c</sup>	93.23 ± 0.02 <sup>b</sup>	
28	94.71 ± 0.02 <sup>d</sup>	92.18 ± 0.16 <sup>b</sup>	93.01 ± 0.00 <sup>c</sup>	91.71 ± 0.19 <sup>a</sup>	92.37 ± 0.08 <sup>b</sup>	
42	93.47 ± 0.01 <sup>e</sup>	91.75 ± 0.10 <sup>c</sup>	90.76 ± 0.02 <sup>b</sup>	90.34 ± 0.01 <sup>a</sup>	92.32 ± 0.02 <sup>d</sup>	
56	92.40 ± 0.10 <sup>c</sup>	90.36 ± 0.09 <sup>c</sup>	89.26 ± 0.14 <sup>a</sup>	90.05 ± 0.03 <sup>b</sup>	91.18 ± 0.03 <sup>d</sup>	
84	90.94 ± 0.05 <sup>c</sup>	89.16 ± 0.02 <sup>b</sup>	88.70 ± 0.05 <sup>a</sup>	88.78 ± 0.02 <sup>a</sup>	89.17 ± 0.07 <sup>b</sup>	

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

<sup>a-e</sup>: Aynı satırdaki farklı üst simge harfler, örnekler arasındaki önemli farklılıkları ( $P < 0.05$ ) göstermektedir.

SC: Kontrol (PSF çözeltisi), A3: Alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek, F3: Alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek, S3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülasyon çözeltisini içeren örnek. P3: Alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsüllerini içeren örnek.

Düşük  $L^*$  karanlığı ve yüksek  $L^*$  aydınlığı ifade etmekle beraber, bir malzemenin bulanıklığı (opaklığı), içinden ne kadar ışık geçtiğinin bir göstergesidir (Souza ve diğ., 2009). Bu bağlamda, gözlenen renk hasarının muhtemelen numunelerin artan bulanıklığından kaynaklanan  $L^*$  parametresindeki (parlaklık) azalmaya da bağlanmaktadır (Mokhtari ve diğ., 2019).

Farklı varyans kaynaklarının  $a_w$  üzerine etkisinin araştırılmasında GLM varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup elde edilen veriler Çizelge 4.34'te gösterilmiştir. Varyans analizinde depolama ortamı, depolama sıcaklığı, örnek, depolama süresi, ortam × depolama sıcaklığı, ortam × örnek, ortam × süre, depolama sıcaklığı × süre, depolama sıcaklığı × örnek, ortam × depolama sıcaklığı × örnek, ortam × örnek × süre, depolama sıcaklığı × örnek × süre, ortam × depolama sıcaklığı × süre, ortam × depolama sıcaklığı ×

örnek  $\times$  süre interaksiyonlarının  $\Delta E$  üzerinde önemli derecede etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.34).

**Çizelge 4.34 :** Farklı depolama ortamları ve farklı depolama sıcaklıklarında depolanan örneklerde zamana bağlı  $\Delta E$ 'ye ait varyans analizi sonuçları.

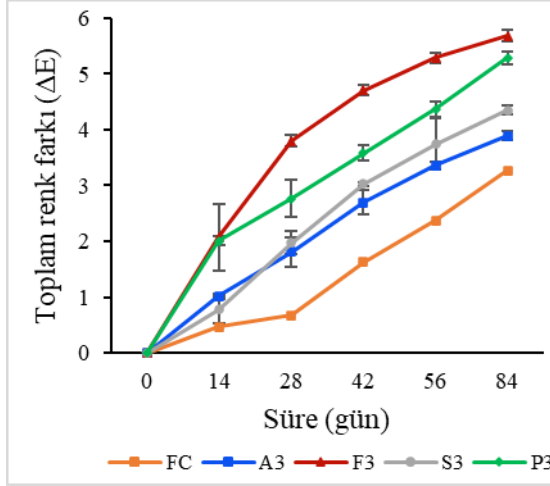
Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Depolama ortamı	1	11.572	503.323	0.000
Depolama sıcaklığı	1	26.993	1174.047	0.000
Örnek	3	6.597	286.946	0.000
Depolama süresi	5	187.232	8143.612	0.000
Ortam $\times$ Depolama sıcaklığı	1	26.910	1166.071	0.000
Ortam $\times$ Örnek	3	0.800	34.788	0.000
Ortam $\times$ Süre	5	1.032	44.891	0.000
Depolama sıcaklığı $\times$ Süre	5	2.247	97.730	0.000
Depolama sıcaklığı $\times$ Örnek	3	1.889	82.155	0.000
Ortam $\times$ Depolama sıcaklığı $\times$ Örnek	3	1.176	51.168	0.000
Ortam $\times$ Örnek $\times$ Süre	15	1.426	62.023	0.000
Depolama sıcaklığı $\times$ Örnek $\times$ Süre	15	0.600	26.101	0.000
Ortam $\times$ Depolama sıcaklığı $\times$ Süre	5	1.267	55.120	0.000
Ortam $\times$ Depolama sıcaklığı $\times$ Örnek $\times$ Süre	15	0.479	20.833	0.000
Hata	192	0.023		

Düşük  $L^*$  karanlığı ve yüksek  $L^*$  aydınlığı ifade etmekle beraber, bir malzemenin bulanıklığı (opaklığı), içinden ne kadar ışık geçtiğinin bir göstergesidir (Souza ve diğ., 2009). Bu bağlamda, gözlenen renk hasarının muhtemelen numunelerin artan bulanıklığından kaynaklanan  $L^*$  parametresindeki (parlaklık) azalmaya da bağlanmaktadır (Mokhtari ve diğ., 2019).

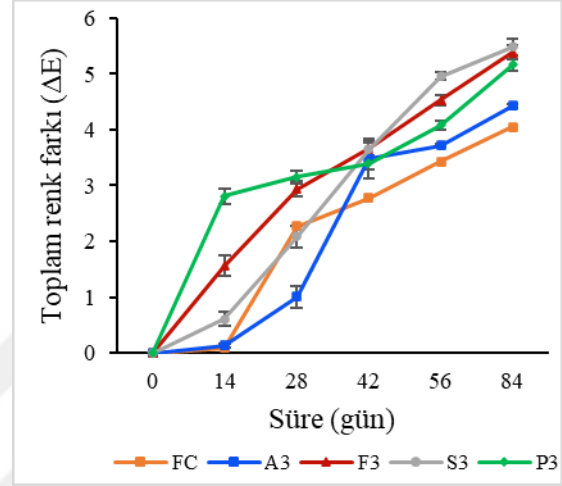
Depolama sıcaklıklarının 4 °C ve 25 °C olduğu ortamlarda 84 günlük depolama sürecinde  $\Delta E$  değerindeki değişimler incelenmiştir. Referans değer olarak depolamanın ilk günü olan 0. gün kabul edilmiş ve depolama boyunca  $\Delta E$  değerlerindeki değişimler belirlenmiştir. Örneklerin (FC, A3, F3, S3 ve P3) elma suyunda 4 °C ve 25 °C sıcaklıklarda depolanması sürecinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimleri sırasıyla Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da ifade edilmiştir. Buna göre, farklı sıcaklıklarda depolama süresi boyunca  $\Delta E$  değerleri artış göstermiştir. İnsan gözü  $\Delta E > 3$  olduğunda renk farklılıklarını algılayabilmektedir (Pereira ve diğ., 2014).

Şekil 4.29 incelendiğinde, elma suyunda 4 °C'de depolanan FC ve A3 örneklerinde gözle görülebilir renk farkının olduğu depolama sürelerinin sırasıyla 84. ve 56. gün olduğu saptanmıştır. F3, S3 ve P3 örneklerinde renk farklılıklarının 28. günden itibaren gözle algılanabildiği sonucuna ulaşılmıştır. Elma suyunda 25 °C'de depolanan FC örneğinde

renk farkının gözle fark edildiği depolama süresi 56. gün olarak belirlenmişken ve A3, F3, S3 ve P3 örneklerinin hepsi için renk farkının gözle anlaşılabilir olduğu depolama süresinin 42. günden itibaren olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın sonunda (84. gün) bütün örnekler için  $\Delta E$  değerinin 3'ten büyük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30).

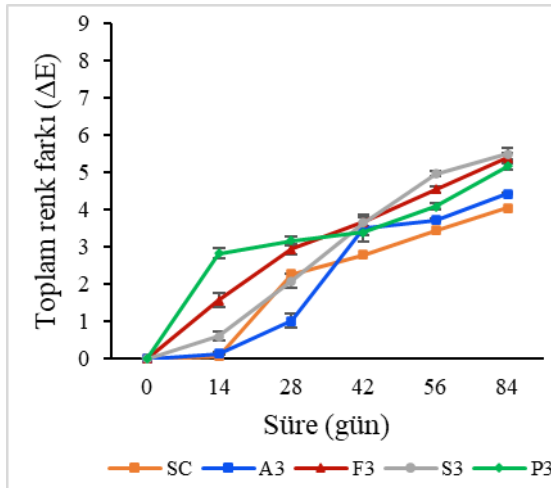


**Şekil 4.29 :** 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.

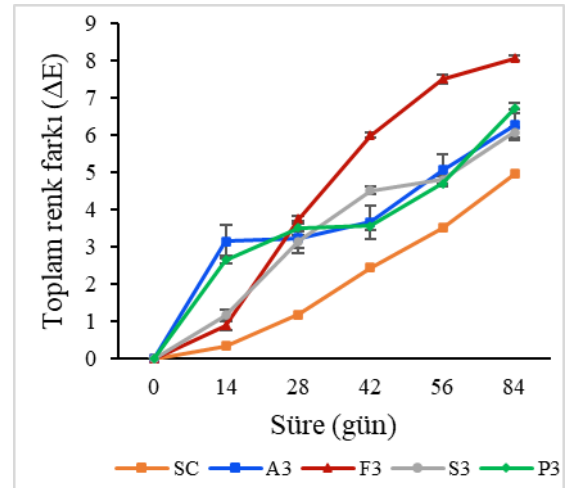


**Şekil 4.30 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren elma suyunda zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.

Örneklerin (FC, A3, F3, S3 ve P3) PSF çözeltisinde 4 °C ve 25 °C sıcaklıklarda depolanması sürecinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimleri sırasıyla Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de ifade edilmiştir.



**Şekil 4.31 :** 4 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.



**Şekil 4.32 :** 25 °C'de depolanan serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* içeren PSF çözeltisinde zamana bağlı  $\Delta E$  değişimi.

Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'ye göre, depolama sıcaklığının 25 °C olduğu ortamda 4 °C olduğu ortama kıyasla 84 günün sonunda renk değişiminin daha fazla olduğu belirlenmiştir. PSF çözeltisinde 4 °C ve 25 °C'de depolanan FC örneği için gözle görülebilir renk farkının 56. günden itibaren olduğu saptanmıştır. A3, F3, S3 ve P3 örneklerinde gözle algılanabilen renk farklılıklarının 25 °C'de 28. günden itibaren belirlenmişken 4 °C'de 42. günden itibaren olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32).

Farklı depolama ortamlarında (elma suyu ve PSF çözeltisi), farklı depolama sıcaklıklarında (4 °C ve 25 °C) 84 günlük depolama süresi boyunca başlangıca göre  $\Delta E$  değişiminde artış gözlenmiştir.  $\Delta E$  değişimindeki bu artış, depolama sırasında örneklerin parlaklığının azalmasına ve örneklerdeki bulanıklık artışına bağlanabilmektedir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Probiyotikler gıda ürünlerinde doğru şekilde kullanıldığında terapötik özellik gösteren canlı biyolojik sistemlerden biri olarak kabul görmektedir. Ancak bu mikroorganizmaların biyoyararlanımlarını olumsuz etkileyen enzimatik reaksiyonlar (proteazlar), pH değişimleri ve safra tuzları nedeniyle gastrointestinal sistemde bazı zorluklarla karşı karşıya kalması söz konusudur. Probiyotiklerin gastroinrestinal sistemde canlı kalabilmeleri ve bağırsakta faydalı fonksiyonları yerine getirebilmeleri için mide ve ince bağırsaktan geçip ve kalın bağırsağa yerleşip çoğalabilmeleri gerekmektedir. Probiyotiklerin süt ve ürünlerinde kullanımı yaygındır. Ancak bu ürünler bazı insanlarda alerjenik etkiye sebebiyet vermekte ve ürünle birlikte probiyotik alımını sınırlamaktadır. Kapsüllenmiş probiyotikleri içeren meyve suyu bu duruma alternatif olarak düşünülmektedir. Enkapsülasyon, bağırsaktaki salımdan önce gastrointestinal sistemin stres koşullarına karşı probiyotiklerin korunmasını sağlamakta ve böylece canlılığın artırılmasında etkili bir yol olmaktadır.

Alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen bir meyvedir. Bu tez çalışmasında *L. acidophilus*'un meyve suyunun asidik koşullarında ve gastrointestinal sistemin stres koşullarına dayanımının artırılması amacıyla prebiyotik olarak alıç suyu ile co-enkapsülasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca *in vitro* gastrointestinal koşullarda ve meyve suyunda depolama stabilitesi incelenmiştir.

Tez çalışmasında alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesinin pomolojik ve fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Alıç meyve örneklerinden rastlantısal olarak numuneler alınmış ve meyvenin çekirdek sayısının bütün örnekler için aynı olduğu ( $2.00 \pm 0.00$ ) saptanmıştır. Meyve ağırlığı  $3.50 \pm 0.49$  g olarak saptanmışken çekirdek ağırlığı  $0.19 \pm 0.05$  g olarak tespit edilmiştir. Meyve eti oranı ise  $\% 93.72 \pm 2.12$ 'dir. *C. orientalis* subsp. *orientalis*'in, pH, toplam asitlik, toplam kuru madde içeriği, suda çözünür kuru madde miktarı, su aktivitesi ve kül içeriği ise sırasıyla  $4.38 \pm 0.01$ ,  $\% 0.86 \pm 0.01$ ,  $\% 26.11 \pm 0.42$ ,  $17.25 \pm 0.50$  °Bx,  $0.952 \pm 0.003$  ve  $\% 0.66 \pm 0.03$  olarak saptanmıştır.

Alıç ve alıç suyunun toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve FRAP) düzeyleri incelenmiştir. Alıç ve alıç suyundan fenolik bileşikler ekstrakte edilmiş ve spektrofotometrik olarak toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite düzeyleri belirlenmiştir. Alıç ve alıç suyu ekstraktlarında bulunan toplam fenolik içerik değerleri sırasıyla  $24.96 \pm 0.23$  mg GAE/g KA ve  $14.78 \pm 0.29$  mg GAE/g KA olarak tespit

edilmiştir. Alıçta bulunan antioksidan aktivite düzeyleri DPPH, ABTS ve FRAP için sırasıyla  $159.24 \pm 1.04$  mmol TE/kg KA,  $119.77 \pm 0.26$  mmol TE/kg KA ve  $3.52 \pm 0.11$  mmol TE/100 g KA olarak saptanmışken alıç suyunda bu değerler sırasıyla  $36.70 \pm 0.14$  mmol TE/kg KA,  $79.52 \pm 0.06$  mmol TE/kg KA ve  $0.61 \pm 0.02$  mmol TE/100 g YA olarak tespit edilmiştir.

Alıç (*C. orientalis* subsp. *orientalis*) meyvesinin HPLC ile fenolik profili,  $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriği belirlenmiştir. Toplamda 9 fenolik bileşik için HPLC’de belirlemeye gidilmiş olup, en fazla bulunan fenolik bileşikler prosiyanidin B2 ( $644.50 \pm 0.26$  mg/kg KA), klorojenik asit ( $267.82 \pm 0.29$  mg/kg KA), rutin ( $233.84 \pm 0.10$  mg/kg KA) ve (+)-kateşin ( $198.10 \pm 0.03$  mg/kg KA) olarak saptanmışken en az bulunan fenolik bileşiğin ise kafeik asit ( $0.18 \pm 0.01$  mg/kg KA) olduğu belirlenmiştir. *C. orientalis* subsp. *orientalis* meyvesinin  $\beta$ -karoten ve A vitamini içeriğinin sırasıyla  $210.66 \pm 0.30$  mg/kg KA ve  $49.15 \pm 0.99$  mg/kg KA olduğu değerlendirilmiştir.

Kaplama malzemesi olarak farklı oranlarda maltodekstrin ve inülin kullanımı ile alıç suyu ve *L. acidophilus*’un püskürterek kurutma yöntemi ile co-enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen enkapsüllerde verim ve etkinlik değerlerinin belirlenmesi ve böylece uygun enkapsül formülasyonunun saptanması sağlanmıştır. Maltodekstrin ve inülinin farklı oranlarda kullanılmasıyla elde edilen enkapsüllerde enkapsülasyon veriminin en yüksek olduğu formülasyon F1 (%  $71.53 \pm 1.87$ ), en düşük olduğu formülasyon ise F3 (%  $66.65 \pm 1.34$ ) olarak değerlendirilmiştir. Farklı formülasyonlarda hazırlanan enkapsüllerde *L. acidophilus* canlılığı yayma plaka yöntemi ile belirlenmiştir. Enkapsülasyon etkinliği için 2 farklı değerlendirme yöntemi kullanılmıştır. Birinci yöntemde logaritmik olarak koloni sayım sonuçları üzerinden ikinci yöntemde ise koloni sayım sonuçları üzerinden hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Birinci ve ikinci yöntemde göre en yüksek enkapsülasyon etkinliği F3 (% 15 (w/v) MD ve % 15 (w/v) IN) formülasyonuna göre elde edilmiş enkapsüllerde belirlenmiştir.

Elde edilen enkapsüllerde fiziksel ve kimyasal ölçümler gerçekleştirilmiştir. Enkapsüllerde fiziksel (yoğunluk, su aktivitesi, nem içeriği, çözünürlük ve renk) ve kimyasal (toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite) ölçümler yapılmıştır. En düşük yoğunluğa ( $0.36 \pm 0.01$  g/mL) sahip enkapsüllerin BK3 formülasyonu ile elde edilen boş enkapsüller olduğu görülmüşken en yüksek yoğunluğa ( $0.46 \pm 0.02$  g/mL) sahip enkapsüllerin F1 formülasyonuna göre hazırlanan enkapsüller olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Enkapsüllerin nem içeriklerinin % 2.55 ila % 3.56 arasında değiştiği

saptanmıştır. Yalnızca maltodekstrin kullanılarak üretilmiş enkapsüllerin (F1) diğer formülasyonlara göre elde edilen enkapsüllere kıyasla daha düşük su aktivitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır ( $P<0.05$ ). Nem içeriği ve su aktivitesindeki artış ile birlikte çözünürlüğün arttığı tespit edilmiş ve en düşük çözünürlüğe sahip formülasyonun F1 ( $90.20 \pm 0.65$ ) olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

Enkapsüllerin yüzey morfolojik yapıları SEM ile incelenmiş olup sadece maltodekstrinin kaplama malzemesi olarak kullanıldığı F1 formülasyonu ile elde edilen enkapsüllerin farklı boyutlarda olduğu ve yüzeylerinde büzülmeler sergiledikleri belirlenmişken formülasyona inülin ilavesinin enkapsül yüzeyindeki bu büzülmeleri azalttığı sonucuna varılmıştır.

En yüksek enkapsülasyon etkinliğinin tespit edildiği F3 formülasyonuna göre elde edilen enkapsüllerde toplam fenolik içerik  $0.75 \pm 0.02$  mg GAE/g KA olarak belirlenmişken antioksidan aktivite düzeyi ( $2.74 \pm 0.03$  mmol TE/kg KA) en fazla ABTS yöntemine göre elde edilmiştir.

En yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip F3 enkapsülleri için *in vitro* gastrointestinal koşullarda canlılık incelenmiştir. Co-enkapsüle edilmiş *L. acidophilus*'un canlılığı yapay gastrik ve intestinal koşullar oluşturulduktan sonra belirli sürelerde (0, 30, 60, 90, 120 ve 240 dk) değerlendirilmiş ve enkapsüller (F3 ve P3) ve enkapsülasyon öncesi çözeltiler (A3 ve S3) için 120 dk sonundaki *L. acidophilus* canlılıklarında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). F3 ve P3 enkapsüllerinin yapay gastrik ortamda 120 dk süreyle inkübasyonu sonucu sırasıyla  $7.03 \pm 0.01$  log kob/mL ve  $6.90 \pm 0.03$  log kob/mL canlılığa sahip olduğu belirlenmiş ( $P<0.05$ ) ve bu da canlılığın terapötik etki gösterecek sınırın (en az 6 log kob/g) üzerinde olduğunu göstermiştir. Yapay intestinal ortamdaki inkübasyon sonucunda F3 ve P3 enkapsüllerindeki canlılıklar sırasıyla  $7.41 \pm 0.01$  log kob/mL ve  $7.22 \pm 0.03$  log kob/mL olarak saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerin serbest halde *L. acidophilus* içeren örneklerle göre daha yüksek canlılığa sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

En yüksek enkapsülasyon etkinliğine sahip F3 enkapsülleri (alıç suyu ve *L. acidophilus* içeren) ve F3 formülasyonuna göre hazırlanan alıç suyu içermeyen *L. acidophilus* enkapsülleri (P3) ve bunların enkapsülasyon öncesi çözeltileri (A3 ve S3) depolama stabilitesinin belirlenmesinde kullanılan örnekleri oluşturmuştur. Serbest (A3 ve S3) ve enkapsül (F3 ve P3) halde bulunan örneklerin 2 farklı depolama ortamında (elma

suyu ve PSF çözeltisi) belirtilen sürelerde (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) ve farklı depolama sıcaklıklarında (4 °C ve 25 °C) depolanması gerçekleştirilmiş ve depolamanın probiyotik bakteri canlılığı üzerine etkisi incelenmiştir. Elma suyu ve PSF çözeltisine inoküle edilen bütün örnekler için probiyotik canlılığında düşüş gözlenmiştir. İki depolama ortamında da alıç suyu ile co-enkapsüle edilmiş örneğin (F3) 4 °C’de depolanması sonucu 42. günde dahil olmak üzere *L. acidophilus* canlılığı 6 log kob/g üzerinde belirlenmiştir. Depolamanın 25 °C olduğu ortamda meyve suyuna inoküle edilen F3 örneği için *L. acidophilus* canlılığı  $5.84 \pm 0.15$  log kob/mL olarak belirlenmişken PSF çözeltisine dahil edilen F3 örneği için canlılık  $5.32 \pm 0.08$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Depolama sıcaklığının 25 °C olmasının 4 °C’ye kıyasla canlılıkta daha fazla kayba neden olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca meyve suyunda depolamanın *L. acidophilus* canlılığını arttırdığı edinilen bir diğer sonuçtur.

Serbest ve enkapsül halde *L. acidophilus* içeren örneklerin meyve suyu ve PSF çözeltisinde belirtilen sürelerde (0, 14, 28, 42, 56 ve 84 gün) ve farklı sıcaklıklarda (4 °C ve 25 °C) depolanması sonucu fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler takip edilmiştir. Depolama süresince enkapsüllerde ölçümü gerçekleştirilen fizikokimyasal özellikler pH, toplam asitlik, °Bx, su aktivitesi ve  $\Delta E$ ’dir. Depolama süresince pH’ın 25 °C’deki depolamada daha fazla azaldığı ve buna bağlı olarak *L. acidophilus* canlılığının da azaldığı anlaşılmıştır. Toplam asitlik değerlerin yine 25 °C’de depolamada daha yüksek olduğu ve elma suyunda depolanan örneklerde asitliğin daha fazla geliştiği belirlenmiştir. Bunun meyve suyunun bileşiminde bulunan şekerlerden ileri geldiği bilinmekte olup *L. acidophilus*’un bu şekerleri metabolize ettiği ve böylece pH’ın düştüğü ve toplam asitliğin arttığı anlaşılmıştır. Enkapsül içeren örneklerde *L. acidophilus*’un şekerlere ulaşması daha zor olduğu için serbest haldeki örneklere göre daha az pH düşüşü ve toplam asitlik artışı ile karşılaşılmıştır. Depolamanın sonunda örneklerde şeker tüketiminden kaynaklandığı düşünülen bir °Bx düşüşü gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Depolama sonucunda örneklerin başlangıca göre  $\Delta E$  değişiminde artış gözlenmiştir.  $\Delta E$  değişimindeki bu artış, depolama sırasında örneklerin parlaklığının azalmasına ve örneklerdeki bulanıklık artışına bağlanmıştır.

Tez çalışması neticesinde sunulabilecek öneriler aşağıda ifade edilmiştir:

- Farklı depolama koşullarında (sıcaklık ve süre) depolama stabilitesi incelenebilir.
- Kaplama malzemesi olarak kullanılan maltodesktrin ve inülinin farklı kombinasyonları üzerinde çalışılabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abd El-Salam, M.H. & El-Shibiny, S.** (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy Science & Technology*, 95, 393–412.
- Afzaal, M., Saeed, F., Saeed, M., Ahmed, A., Ateeq, H., Nadeem, M. T., & Tufail, T.** (2020). Survival and stability of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated gastrointestinal conditions and in pasteurized grape juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3), 1–8.
- Ağlar, E., Sümbül, A., Karakaya, O., & Ozturk, B.** (2020). Determination of the quality characteristics of naturally growing hawthorn in Su Şehri. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 19(1), 61–70.
- Akbarbaglu, Z., Mahdi Jafari, S., Sarabandi, K., Mohammadi, M., Khakbaz Heshmati, M., & Pezeshki, A.** (2019). Influence of spray drying encapsulation on the retention of antioxidant properties and microstructure of flaxseed protein hydrolysates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178, 421–429.
- Albadran, H. A., Chatzifragkou, A., Khutoryanskiy, V. V., & Charalampopoulos, D.** (2018). Development of surfactant-coated alginate capsules containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 82, 490-499.
- Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., Sonboli, A., Alirezalu, K., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., Munekata, P. E. S., & Lorenzo, J. M.** (2020). Physicochemical characterization, antioxidant activity, and phenolic compounds of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits species for potential use in food applications. *Foods*, 9(4).
- Alvarenga Botrel, D., Vilela Borges, S., de Barros, V., Fernandes, R., Dantas Viana, A., Gomes, M., da Costa, J., & Reginaldo Marques, G.** (2012). Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(11), 2289–2296.
- Anekella, K., & Orsat, V.** (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 17-24.
- Angmo, K., Kumari, A., & Bhalla, T. C.** (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 428-435.
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., & Momin, A.** (2014). *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the species and application in food production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9), 1241-1251.
- AOAC.** (2005). Official Methods of Analysis. 18th edn. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Araujo-Díaz, S. B., Leyva-Porras, C., Aguirre-Bañuelos, P., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, Z.** (2017). Evaluation of the physical properties and

conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers*, 167, 317–325.

- Assadpour, E., & Jafari, S. M.** (2019). Advances in spray-drying encapsulation of food bioactive ingredients: from microcapsules to nanocapsules. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 103–131.
- Atia, A., Gomma, A. I., Fliss, I., Beyssac, E., Garrait, G., & Subirade, M.** (2017). Molecular and biopharmaceutical investigation of alginate–inulin synbiotic coencapsulation of probiotic to target the colon. *Journal of Microencapsulation*, 34(2), 171–184.
- Banerjee, D., Chowdhury, R., & Bhattacharya, P.** (2017). *In-vitro* evaluation of targeted release of probiotic *Lactobacillus casei* (2651 1951 RPK) from synbiotic microcapsules in the gastrointestinal (GI) system: Experiments and modeling. *LWT-Food Science and Technology*, 83, 243–253.
- Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R.** (2011). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical Analysis*, 22(2), 181–188.
- Beirão-da-Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Nunes Januário, M. I., Vicente, A. A., Beirão-da-Costa, M. N., Delgadillo, I.** (2013). Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 199–206.
- Bhandari, B. R., & Howes, T.** (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40(1–2), 71–79.
- Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B., & Reinheimer, J. A.** (2004). Incorporation of Bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14, 375–387.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C.** (2005). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science Technology*, 28, 25–30.
- Bujna, E., Farkas, N. A., Tran, A. M., Dam, M. S., & Nguyen, Q. D.** (2018). Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 547–554.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J.** (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483.
- Burhan, A. M., Abdel-Hamid, S. M., Soliman, M. E., & Sasmour, O. A.** (2019). Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 36(3), 250–266.
- Çaliskan, O., Gündüz, K., Serçe, S., Toplu, C., Kamiloglu, Ö., Sengül, M., & Ercisli, S.** (2012). Phytochemical characterization of several hawthorn (*Crataegus* spp.) species sampled from the Eastern Mediterranean region of Turkey. *Pharmacognosy Magazine*, 8(29), 16–21.
- Campos, A. A., Gomes, J. M., Silva, E. K., Azevedo, V. M., Yoshida, M. I., & Borges, S. V.** (2015). Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare*

- L.) essential oil microparticles. *Journal of Food Process Engineering*, 38, 1-10.
- Caplice, E., & Fitzgerald, G.F.** (1999). Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131–149.
- Castel, V., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R.** (2018). Brea gum as wall material in the microencapsulation of corn oil by spray drying: Effect of inulin addition. *Food Research International*, 103, 76–83.
- Ceylan, Ş., Yarar, R., Camadan, Y., Saral, Ö., & Özşen, Ö.** (2019). Şırnak Bölgesi'ndeki halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin antioksidan ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(2), 628–638.
- Chai, W. M., Chen, C. M., Gao, Y. S., Feng, H. L., Ding, Y. M., Shi, Y., Zhou, H. T., & Chen, Q. X.** (2014). Structural analysis of proanthocyanidins isolated from fruit stone of chinese hawthorn with potent antityrosinase and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 123–129.
- Chehardoli, G., Norouziyan, P., & Firozian, F.** (2020). Inulin-grafted stearate (In-g-St) as the effective self-assembling polymeric micelle: synthesis and evaluation for the delivery of betamethasone. *Journal of Nanomaterials*, 2020, 1-8.
- Chen, Q., McGillivray, D., Wen, J., Zhong, F., & Quek, S. Y.** (2013). Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 505-512.
- Chronakis, I. S.** (1998). On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(7), 599–637.
- Chuy, L. E., & Labuza, T. P.** (1994). Caking and stickiness of dairy-based food powders as related to glass transition. *Journal of Food Science*, 59(1), 43-46.
- Çoklar, H., & Akbulut, M.** (2016). Alıç (*Crataegus orientalis*) meyvesinin antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu üzerine farklı çözüngenlerin etkisi. *Derim*, 33(2), 235–246.
- Coklar, H., Akbulut, M., Kilinc, S., Yildirim, A., & Alhassan, I.** (2018). Effect of freeze, oven and microwave pretreated oven drying on color, browning index, phenolic compounds and antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus orientalis*) fruit. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2), 449–456.
- Colín-Cruz, M. A., Pimentel-González, D. J., Carrillo-Navas, H., Alvarez-Ramírez, J., & Guadarrama-Lezama, A. Y.** (2019). Co-encapsulation of bioactive compounds from blackberry juice and probiotic bacteria in biopolymeric matrices. *LWT-Food Science and Technology*, 110, 94–101.
- Čopra-Janićjević, A., Čulum, D., Vidic, D., Tahirović, A., Klepo, L., & Bašić, N.** (2018). Chemical composition and antioxidant activity of the endemic *Crataegus microphylla* Koch subsp. *malyana* K. I. Chr. & Janjić from Bosnia. *Industrial Crops and Products*, 113, 75–79.

- Corcoran, B. M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C.** (2004). Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. *Journal of Applied Microbiology*, *96*, 1024-1039.
- Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G., & Ross, R. P.** (2008). Life under stress: the probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design*, *14*(14), 1382-1399.
- Cosmulescu, S., Trandafir, I., & Nour, V.** (2017). Phenolic acids and flavonoids profiles of extracts from edible wild fruits and their antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, *20*(12), 3124–3134.
- Çötel, E., & Karataş, F.** (2017). Ateş dikeninin (*Pyracantha coccinea* Roemer var. *lalandi*) kırmızı meyvelerindeki A, E, C vitamini,  $\beta$ -karoten, likopen, glutasyon ve malondialdehit miktarlarının araştırılması. *Firat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*, *29*(1), 41–46.
- Cozzolino, D., Phan, A. D. T., Netzel, M., Smyth, H., & Sultanbawa, Y.** (2021). Assessing the interaction between drying and addition of maltodextrin to Kakadu plum powder samples by two dimensional and near infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *247*, 119121.
- Čulum, D., Čopra-Janićijević, A., Vidic, D., Klepo, L., Tahirović, A., Bašić, N., & Maksimović, M.** (2018). HPLC-ED analysis of phenolic compounds in three Bosnian *Crataegus* species. *Foods*, *7*(5), 1–7.
- Dave, R. I., & Shah, N. P.** (1997). Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, *7*(8–9), 537–545.
- de Paulo Farias, D., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M.** (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science & Technology*, *93*, 23-35.
- De Prisco, A., & Mauriello, G.** (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, *48*, 27-39.
- De Vuyst, L.** (2000). Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, *38*, 105–112.
- Debelo, H., Novotny, J. A., & Ferruzzi, M. G.** (2017). Vitamin A. *Advances in Nutrition*, *8*(6), 992-994.
- Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., & Hayaloglu, A. A.** (2014). Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa L.*) fruits in Turkey. *LWT-Food Science and Technology*, *57*(1), 126–133.
- Deraz, S. F., Karlsson, E. N., Hedström, M., Andersson, M. M., & Mattiasson, B.** (2005). Purification and characterisation of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. *Journal of Biotechnology*, *117*(4), 343-354.
- Dias, C. O., dos Santos Opuski de Almeida, J., Pinto, S. S., de Oliveira Santana, F. C., Verruck, S., Müller, C. M. O., Prudêncio, E. S., & de Mello Castanho Amboni, R. D.** (2018). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. *Food Bioscience*, *24*, 26–36.



- Dima, C., Pătrașcu, L., Cantaragiu, A., Alexe, P., & Dima, S.** (2016). The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. *Food Chemistry*, *195*, 39–48.
- Ding, W. K., & Shah, N. P.** (2008). Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal*, *15*(2), 219–232.
- Ding, W. K., & Shah, N. P.** (2009). An improved method of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage. *Journal of Food Science*, *74*(2), 53–61.
- Dong, Q. Y., Chen, M. Y., Xin, Y., Qin, X. Y., Cheng, Z., Shi, L. E., & Tang, Z. X.** (2013). Alginate-based and protein-based materials for probiotics encapsulation: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, *48*(7), 1339–1351.
- Doron, S., & Snyderman, D. R.** (2015). Risk and safety of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, *60*, 129–134.
- Du, Q., Tang, J., Xu, M., Lyu, F., Zhang, J., Qiu, Y., Liu, J., & Ding, Y.** (2021). Whey protein and maltodextrin-stabilized oil-in-water emulsions: Effects of dextrose equivalent. *Food Chemistry*, *339*, 128094.
- Edwards, J. E., Brown, P. N., Talent, N., Dickinson, T. A., & Shipley, P. R.** (2012). A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, *79*, 5–26.
- Ercisli, S.** (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *51*(4), 419–435.
- Ercisli, S., Yanar, M., Sengul, M., Yildiz, H., Topdas, E. F., Taskin, T., Zengin, Y., & Yilmaz, K. U.** (2015). Physico-chemical and biological activity of hawthorn (*Crataegus* spp. L.) fruits in Turkey. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, *14*(1), 83–93.
- Fávaro-Trindade, C. S., Heinemann, R. J. B., & Pedroso, D. D. L.** (2011). Developments in probiotic encapsulation. *CABI Reviews*, *2011*, 1–8.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Ashtari, A. K., & Omid, M.** (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and Bioprocess Technology*, *90*(4), 667–675.
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., & Halim, M.** (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, *48*, 387–399.
- Ferioli, F., Giambanelli, E., & D'Antuono, L. F.** (2020). Application of different analytical methods for the determination of phenolics and antioxidant activity in hawthorn (*Crataegus* spp.) bud and sprout herbal extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *93*, 1–10.
- Fernandes, R. V. D. B., Borges, S. V., Botrel, D. A., & Oliveira, C. R. D.** (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. *International Journal of Food Science & Technology*, *49*(6), 1522–1529.

- Fitzpatrick, J. J., O'Connor, J., Cudmore, M., & Dos Santos, D.** (2017). Caking behaviour of food powder binary mixes containing sticky and non-sticky powders. *Journal of Food Engineering*, 204, 73–79.
- Flores-Mancha, M. A., Ruíz-Gutiérrez, M. G., Sánchez-Vega, R., Santellano-Estrada, E., & Chávez-Martínez, A.** (2020). Characterization of betabel extract (*Beta vulgaris*) encapsulated with maltodextrin and inulin. *Molecules*, 25(23), 28–33.
- Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D., Pinto, S. S., Negrão-Murakami, A. N., & Murakami, F. S.** (2012). Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Research International*, 45(1), 306-312.
- Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J. L., Trotin, F., & Grec, S.** (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, 115(3), 897–903.
- Fu, N., & Chen, X. D.** (2011). Towards a maximal cell survival on convective thermal drying process. *Food Research International*, 44, 1127-1149.
- Gandhi, D. N.** (2006). Microbiology of fermented dairy products. In: Dairy Microbiology Division. National Dairy Research Institute, Karnal, Haryana, India.
- Gardiner, G. E., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M. A., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P., & Stanton, C.** (2000). Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2605–2612.
- Garnero, C., Aloisio, C., & Longhi, M.** (2013). Ibuprofen-maltodextrin interaction: Study of enantiomeric recognition and complex characterization. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(1), 18-30.
- Gaudreau, H., Champagne, C. P., Remondetto, G. E., Gomaa, A., & Subirade, M.** (2016). Co-encapsulation of *Lactobacillus helveticus* cells and green tea extract: Influence on cell survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 26, 451–459.
- Gerez, C. L., de Valdez, G. F., Gigante, M. L., & Grosso, C. R. F.** (2012). Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 to low pH. *Letters in Applied Microbiology*, 54(6), 552–556.
- Ghandi, A., Powell, I. B., Chen, X. D., & Adhikari, B.** (2012). The effect of dryer inlet and outlet air temperatures and protectant solids on the survival of *Lactococcus lactis* during spray drying. *Drying Technology*, 30(14), 1649–1657.
- Gharsallaoui, A., Chambin, O., & Saurel, R.** (2008). Using plant macromolecules to produce adjustable microcapsules by spray-drying. In Proceeding of the XVI international conferences on bioencapsulation. Dublin, Ireland, September 4-6, 2008.

- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R.** (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B.** (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gill, H. S., & Guarner, F.** (2004). Probiotics and human health: A clinical perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 516–526.
- Goderska, K., Nowak, J., & Czarnecki, Z.** (2008). Comparison of the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. *Technologia Alimentar*, 7(2), 5–20.
- Goëlo, V., Chaumon, M., Gonçalves, A., Estevinho, B. N., & Rocha, F.** (2020). Polysaccharide-based delivery systems for curcumin and turmeric powder encapsulation using a spray-drying process. *Powder Technology*, 370, 137–146.
- González-Jiménez, F. E., Salazar-Montoya, J. A., Calva-Calva, G., & Ramos-Ramírez, E. G.** (2018). Phytochemical characterization, *in vitro* antioxidant activity, and quantitative analysis by micellar electrokinetic chromatography of hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *Journal of Food Quality*, 2018, 2154893.
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G.** (2008). Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. powder properties. *Drying Technology*, 26(6), 726–737.
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. D. A. F., & Shah, N. P.** (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 455-470.
- Guergoletto, K. B., Busanello, M., & Garcia, S.** (2017). Influence of carrier agents on the survival of *Lactobacillus reuteri* LR92 and the physicochemical properties of fermented juçara pulp produced by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 321–327.
- Gul, O., & Dervisoglu, M.** (2020). Optimization of spray drying conditions for microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota using response surface methodology. *European Food Science and Engineering*, 1(1), 1-8.
- Gundogdu, M., Ozrenk, K., Ercisli, S., Kan, T., Kodad, O., & Hegedus, A.** (2014). Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (*Crataegus* spp.) from Turkey. *Biological Research*, 47(1), 1–5.
- Guo, X. H., Kim, J. M., Nam, H. M., Park, S. Y., & Kim, J. M.** (2010). Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on *in vitro* functional properties. *Anaerobe*, 16(4), 321–326.
- Gurlen, A., Gundogdu, M., Ozer, G., Ercisli, S., & Duralija, B.** (2020). Primary, secondary metabolites and molecular characterization of hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes. *Agronomy*, 10(11), 1–18.

- Hamilton-Miller, J. M. T., Shah, S., & Winkler, J. T.** (1999). Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutrition*, 2(2), 223-229.
- Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P. G., & Gordon, J. I.** (2001). Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 291(5505), 881-884.
- Hossain, M. I., Sadekuzzaman, M., & Ha, S. D.** (2017). Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Research International*, 100, 63-73.
- Hunter, R.S.** (1958). Photoelectric color-difference meter. *Journal of the Optical Society of America*, 48(12), 985–995.
- Hutkins, R. W.** (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*, 1<sup>st</sup> ed., IFT Press. Blackwell Pub., Ames, Iowa.
- Ibrahim, M. S., Ibrahim, Y. I., Mukhtar, Z. G., & Karatas, F.** (2017). Amount of vitamin A, vitamin E, vitamin C, malondialdehyde, glutathione, ghrelin, beta-carotene, Lycopene in fruits of hawthorn, Midland (*Crataegus laevigata*). *Journal of Human Nutrition & Food Science*, 5(3), 1112.
- İsmail, O., & Gökçe Kocabay, Ö.** (2022). Vacuum oven drying of mussels: mathematical modeling, drying characteristics and kinetics study. *British Food Journal*, 124(4), 1238–1253.
- Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I.** (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Čačanska Bestrna.” *Industrial Crops and Products*, 53, 274–281.
- Jafari, S. M., Esfanjani, A. F., Katouzian, I., & Assadpour, E.** (2017). Chapter 10-release, characterization, and safety of nanoencapsulated food ingredients. *Nanoencapsulation of food bioactive ingredients* (pp. 401–453). Academic Press.
- Janjarasskul, T., & Krochta, J. M.** (2010). Edible packaging materials. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 415-448.
- Jin, J., Zhang, B., Guo, H., Cui, J., Jiang, L., Song, S., Sun, M., & Ren, F.** (2012). Mechanism analysis of acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BBMN 68 by gene expression profile using RNA-sequencing. *PLoS One*, 7(12), e50777.
- Johnson, J. L., Phelps, C. F., Cummins, C. S., London, J., & Gasser, F.** (1980). Taxonomy of the *Lactobacillus acidophilus* group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), 53-68.
- Jones, F.** (1999). *Lactobacillus acidophilus*. Department of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.
- Kailasapathy, K.** (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 3(2), 39-48.

- Kalita, D., Saikia, S., Gautam, G., Mukhopadhyay, R., & Mahanta, C. L.** (2018). Characteristics of synbiotic spray dried powder of litchi juice with *Lactobacillus plantarum* and different carrier materials. *LWT-Food Science and Technology*, *87*, 351–360.
- Karabulut, I., Gokbulut, I., Bilenler, T., Sislioglu, K., Ozdemir, I. S., Bahar, B., Çelik, B., & Seyhan, F.** (2018). Effect of fruit maturity level on quality, sensory properties and volatile composition of two common apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(7), 2671–2678.
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H.** (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. *Food Bioscience*, *21*, 34–44.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., & Fakiri, E. M.** (2013). Health benefit of probiotic: a review. *ISRN Nutrition*, *2013*, 1–7.
- Keinänen, M., Julkunen-Tiitto, R., Mutikainen, P., Walls, M., Ovaska, J., & Vapaavuori, E.** (1999). Trade-offs in secondary metabolism: effects of fertilization, defoliation, and genotype on birch leaf phenolics. *Ecology*, *80*, 1970-1986.
- Kenneth. T.** (2009). Diversity of metabolism in prokaryotes. In: *Todars Online Book of Bacteriology*. Madison, Wisconsin.
- Khuituan, P., K-da, S., Bannob, K., Hayeewaema, F., Peerakietkhajorn, S., Tiphunjong, C., Wichienhot, S., & Charoenphandhu, N.** (2019). Prebiotic oligosaccharides from dragon fruits alter gut motility in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *114*, 108821.
- Kingwatee, N., Apichartsrangkoon, A., & Chaikham, P.** (2015). Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. *LWT - Food Science and Technology*, *62*(1), 847–853.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., & Reuter, G.** (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *41*(2), 103-125.
- Kolożyn-Krajewska, D., & Dolatowski, Z. J.** (2012). Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*, *47*(12), 1761-1772.
- Korbekandi, H., Mortazavian, A. M., & Irvani, S.** (2011). Technology and stability of probiotic in fermented milks. *Probiotic and Prebiotic Foods: Technology, Stability and Benefits to the Human Health*, *1*, 131-167.
- Kostić, D. A., Velicković, J. M., Mitić, S. S., Mitić, M. N., & Randelović, S. S.** (2012). Phenolic content, and antioxidant and antimicrobial activities of *Crataegus oxyacantha* L (Rosaceae) fruit extract from Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *11*(1), 117–124.
- Kraujalyte, V., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Česonienė, L., & Daubaras, R.** (2013). Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) genotypes. *Food Chemistry*, *141*(4), 3695–3702.

- Krumbeck, J. A., Walter, J., & Hutkins, R. W.** (2018). Synbiotics for improved human health: recent developments, challenges, and opportunities. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 451-479.
- Kumar, B. V., Sreedharamurthy, M., & Reddy, O. V. S.** (2015). Probiotication of mango and sapota juices using *Lactobacillus plantarum* NCDC LP 20. *Nutrafoods*, 14(2), 97–106.
- Kun, S., Rezessy-Szabó, J. M., Nguyen, Q. D., & Hoschke, Á.** (2008). Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43(8), 816-821.
- Lalasa, P., Vishal Gupta, N., Raghunandan, H. V., Prathusha, P. L., & Athkuri, K.** (2013). A review on applications of GAMP -5 in pharmaceutical industries. *International Journal of Drug Development and Research*, 5(3), 4–16.
- Lasta, E. L., da Silva Pereira Ronning, E., Dekker, R. F. H., & da Cunha, M. A. A.** (2021). Encapsulation and dispersion of *Lactobacillus acidophilus* in a chocolate coating as a strategy for maintaining cell viability in cereal bars. *Scientific Reports*, 11(1), 1–12.
- Lee, Y. K., & Salminen, S.** (2009). Handbook of probiotics and prebiotics. John Wiley & Sons.
- Li, X. Y., Chen, X. G., Sun, Z. W., Park, H. J., & Cha, D. S.** (2011). Preparation of alginate/chitosan/carboxymethyl chitosan complex microcapsules and application in *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1479–1485.
- Liu, H., Liu, J., Lv, Z., Yang, W., Zhang, C., Chen, D., & Jiao, Z.** (2019). Effect of dehydration techniques on bioactive compounds in hawthorn slices and their correlations with antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(5), 2446–2457.
- Liu, P.** (2012). Composition of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits and leaves and emblic leafflower (*Phyllanthus emblica*) fruits. Department of Biochemistry and Food Chemistry University of. (Ph D Tesis). Finland, Turku.
- Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C., Ou, S., & Yang, B.** (2010). Acids, sugars, and sugar alcohols in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1012–1019.
- Looi, Y. F., Ong, S. P., Julkifle, A., & Alias, M. S.** (2019). Effects of pretreatment and spray drying on the physicochemical properties and probiotics viability of Moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaf juice powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(4), e13915.
- Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Shpigelman, A., Granato, D., & Franco, D.** (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106, 1095-1104.
- Lou, X., Xu, H., Hanna, M., & Yuan, L.** (2020). Identification and quantification of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolic compounds in hawthorn berry fruit (*Crataegus pinnatifida*) and antioxidant activity evaluation. *LWT-Food Science and Technology*, 130, 109643.

- Lou, X., Yuan, B., Wang, L., Xu, H., Hanna, M., & Yuan, L.** (2020). Evaluation of physicochemical characteristics, nutritional composition and antioxidant capacity of Chinese organic hawthorn berry (*Crataegus pinnatifida*). *International Journal of Food Science and Technology*, 55(4), 1679–1688.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D.** (2020). Microencapsulation of pineapple peel extract by spray drying using maltodextrin, inulin, and arabic gum as wall matrices. *Foods*, 9(6), 718.
- Maciel, G. M., Chaves, K. S., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L.** (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 1991–1998.
- María Ruiz-Rodríguez, B., De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Fernández-Ruiz, V., De Cortes Sánchez-Mata, M., Cámara, M., & Tardío, J.** (2014). Les fruits du prunellier sauvage (*Prunus spinosa* L.) et delâaubâpine (*Crataegus monogyna* Jacq.) sont de prâcieuses sourcesdâantioxydants. *Fruits*, 69(1), 61–73.
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E.** (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 15–25.
- Martz, F., Jaakola, L., Julkunen-Tiitto, R., & Stark, S.** (2010). Phenolic composition and antioxidant capacity of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) leaves in Northern Europe following foliar development and along environmental gradients. *Journal of Chemical Ecology*, 36(9), 1017–1028.
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M.** (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 768–776.
- Mestry, A. P., Mujumdar, A. S., & Thorat, B. N.** (2011). Optimization of spray drying of an innovative functional food: fermented mixed juice of carrot and watermelon. *Drying Technology*, 29(10), 1121–1131.
- Milner, J. A.** (2018). Molecular targets for bioactive food components. *The Journal of Nutrition*, 134, 2492–2498.
- Misra, S., Pandey, P., & Mishra, H. N.** (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 109, 340–351.
- Mitmesser, S., & Combs, M.** (2017). Prebiotics: Inulin and other oligosaccharides. In *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology* (pp. 201–208). Academic Press.
- Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., & Cruz, A. G.** (2011). Probiotic ice cream: Viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology*, 61, 411–424.

- Mokhtari, S., Jafari, S. M., & Khomeiri, M.** (2019). Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Science and Technology International*, 25(2), 120–129.
- Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J.** (2007). Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganisms in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 123–127.
- Mraihi, F., Journi, M., Chérif, J. K., Sokmen, M., Sokmen, A., & Trabelsi-Ayadi, M.** (2013). Phenolic contents and antioxidant potential of *Crataegus* fruits grown in Tunisia as determined by DPPH, FRAP, and  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay. *Journal of Chemistry*, 2013, 1-6.
- Muradoğlu, F., Gürsoy, S., & Yıldız, K.** (2019). Quantification analysis of biochemical and phenolic composition in hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits. *Erwerbs-Obstbau*, 61(2), 189–194.
- Nadeem, H. S., Torun, M., & Ozdemir, F.** (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT-Food Science and Technology*, 44(7), 1626-1635.
- Nazari Kermanshahi, S., Sharifan, A., & Yousefi, S.** (2021). Physicochemical, microstructural, bioactivity and viability characteristics of probiotic spray-dried raisin powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 633–642.
- Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, S. B., Silva, A. M., Severino, P., Souto, E.B. & Santini, A.** (2020). Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties. *Forests*, 11(5), 564.
- Neish, A.S.** (2017). Probiotics of the *acidophilus* group: *Lactobacillus acidophilus*, *delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *johnsonii*. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*, 6, 71–77.
- Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., & Jazaeri, S.** (2016). Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 49–53.
- Nichols, A. W.** (2007). Probiotics and athletic performance: a systematic review. *Current sports medicine reports*, 6(4), 269-273.
- Nilsang, P.** (2021). Viability of the microencapsulation of *Lactobacillus casei* TISTR 390 containing inulin in simulated gastrointestinal conditions and storage. *Trends in Sciences*, 18(20), 15-15.
- Oberoi, K., Tolun, A., Sharma, K., & Sharma, S.** (2019). Microencapsulation: An overview for the survival of probiotic bacteria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(2), 280–287.
- Orhan, I. E.** (2018). Phytochemical and pharmacological activity profile of *Crataegus oxyacantha* L.(hawthorn)-A cardiotonic herb. *Current Medicinal Chemistry*, 25(37), 4854-4865.



- Özcan, M., Haciseferoğullari, H., Marakoğlu, T., & Arslan, D.** (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: Some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69(4), 409–413.
- Özderin, S., Fakir, H., & Dönmez, E.** (2016). Chemical properties of hawthorn (*Crataegus* L. spp.) taxa naturally distributed in western Anatolia part of Turkey. *Şumarski List*, 140(7-8), 369-375.
- Paim, D. R. S. F., Costa, S. D. O., Walter, E. H. M., & Tonon, R. V.** (2016). Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 21–25.
- Pavlovic, J., Mitic, S., Mitic, M., Kocic, G., Pavlovic, A., & Tosic, S.** (2019). Variation in the phenolic compounds profile and antioxidant activity in different parts of hawthorn (*Crataegus pentagyna* Willd.) during harvest periods. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4), 367–378.
- Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., & Solis-Oviedo, R. L.** (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197.
- Peng, M., Houser, A. K., Rahaman, S. O., Padilla, J., Anderson, M., Akmel, A., Truong, A., Bhatti, J., & Biswas, D.** (2020). Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1908-1933.
- Peredo, A. G., Beristain, C. I., Pascual, L. A., Azuara, E., & Jimenez, M.** (2016). The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 191–196.
- Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., Lima, M. A., da Costa, J. M. C., & Rodrigues, S.** (2014). Spray-drying of probiotic cashew apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 7(9), 2492–2499.
- Pereira, D. C. D. S., Beres, C., Gomes, F. D. S., Tonon, R. V., & Cabral, L. M.** (2020). Spray drying of juçara pulp aiming to obtain a “pure” powdered pulp without using carrier agents. *Drying Technology*, 38, 1175-1185.
- Pineiro, M., Asp, N. G., Reid, G., Macfarlane, S., Morelli, L., Brunser, O., & Tuohy, K.** (2008). FAO Technical meeting on prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42, 156-159.
- Piñón-Balderrama, C. I., Leyva-Porras, C., Terán-Figueroa, Y., Espinosa-Solís, V., Álvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, M. Z.** (2020). Encapsulation of active ingredients in food industry by spray-drying and nano spray-drying technologies. *Processes*, 8(8), 889.
- Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Dias, C. O., & Amboni, R. D. M. C.** (2019). A potential technological application of probiotic microcapsules in lactose-free Greek-style yoghurt. *International Dairy Journal*, 97, 131–138.
- Pinto, S. S., Verruck, S., Vieira, C. R., Prudêncio, E. S., Amante, E. R., & Amboni, R. D.** (2015). Influence of microencapsulation with sweet whey and prebiotics on the survival of *Bifidobacterium*-BB-12 under simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1004-1009.

- Quirós-Sauceda, A. E., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A.** (2014). Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(9), 1674-1685.
- Rashidinejad, A., Bahrami, A., Rehman, A., Rezaei, A., Singh, H., & Jafari, S. M.** (2020). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional / synbiotic dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(9), 2470-2494.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.
- Refaat, A. T., Shahat, A. A., Ehsan, N. A., Yassin, N., Hammouda, F., Tabl, E. A., & Ismail, S. I.** (2010). Phytochemical and biological activities of *Crataegus sinaica* growing in Egypt. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *3*(4), 257-261.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W.** (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, *66*(4), 401-436.
- Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E. J., & Pérez-Alonso, C.** (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, *111*(1), 102-109.
- Rodrigues, D., Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Silva, J. P., Costa, P., Amaral, M. H., Rocha-Santos, T., & Freitas, A. C.** (2012). Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in Low pH fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, *5*(7), 2748-2757.
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., & Sato, H. H.** (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. *Food Research International*, *137*, 109682.
- Saavedra-Leos, M. Z., Leyva-Porras, C., López-Martínez, L. A., González-García, R., Martínez, J. O., Martínez, I. C., & Toxqui-Terán, A.** (2019). Evaluation of the spray drying conditions of blueberry juice-maltodextrin on the yield, content, and retention of quercetin 3-D-galactoside. *Polymers*, *11*(2), 1-14.
- Saavedra-Leos, Z., Leyva-Porras, C., Araujo-Díaz, S. B., Toxqui-Terán, A., & Borrás-Enríquez, A. J.** (2015). Technological application of maltodextrins according to the degree of polymerization. *Molecules*, *20*(12), 21067-21081.
- Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D.** (1990). Rapid extraction of lycopene and  $\beta$ -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *Journal of Food Science*, *55*(5), 1460-1461.
- Šavikin, K. P., Krstić-Milošević, D. B., Menković, N. R., Beara, I. N., Mrkonjić, Z. O., Pljevljakušić, D. S.** (2017). *Crataegus orientalis* leaves and berries:

phenolic profiles, antioxidant and anti-inflammatory activity. *Natural Product Communications*, 12(2), 159-162.

- Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sandholm, T., & de Vos, W. M.** (2005). Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 204-211.
- Sekhon, B. S., & Jairath, S.** (2010). Prebiotics, probiotics and synbiotics: an overview. *Journal of Pharmaceutical Education & Research*, 1(2), 13-36.
- Serçe, S., Şimşek, Ö., Toplu, C., Kamiloğlu, Ö., Çalışkan, O., Gündüz, K., Özgen, M., & Kaçar, Y. A.** (2011). Relationships among *Crataegus* accessions sampled from Hatay, Turkey, as assessed by fruit characteristics and RAPD. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(6), 933–942.
- Shori, A. B.** (2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI Journal of Biosciences*, 24(1), 1–5.
- Silva, E. K., & Meireles, M. A. A.** (2015). Influence of the degree of inulin polymerization on the ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil. *Carbohydrate Polymers*, 133, 578–586.
- Simpson, P. J., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P.** (2005). Intrinsic tolerance of *Bifidobacterium* species to heat and oxygen and survival following spray-drying and storage. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 493–501.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sohail, A., Turner, M. S., Prabawati, E. K., Coombes, A. G. A., & Bhandari, B.** (2012). Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 162–166.
- Soottitantawat, A., Partanen, R., Neoh, T. L., & Yoshii, H.** (2015). Encapsulation of hydrophilic and hydrophobic flavors by spray drying. *Japan Journal of Food Engineering*, 16(1), 37-52.
- Sousa, M. A. D., Rama, G. R., Volken de Souza, C. F., & Granada, C. E.** (2020). Acid lactic lactobacilli as a biotechnological toll to improve food quality and human health. *Biotechnology Progress*, 36(2), e2937.
- Sousa, S., Gomes, A. M., Pintado, M. M., Silva, J. P., Costa, P., Amaral, M. H., Duarte, A. C., Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., & Freitas, A. C.** (2015). Characterization of freezing effect upon stability of, probiotic loaded, calcium-alginate microparticles. *Food and Bioprocess Technology*, 93, 90–97.
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Casariego, A., Lima, A. M. P., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A.** (2009). Effect of moderate electric fields in the permeation properties of chitosan coatings. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2110-2115.
- Souza, F. N., Gebara, C., Ribeiro, M. C. E., Chaves, K. S., Gigante, M. L., & Grosso, C. R. F.** (2012). Production and characterization of microparticles containing pectin and whey proteins. *Food Research International*, 49(1), 560–566.

- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M.** (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, *81*(1), 200–208.
- Stokstad, E. L. R.** (1954). Antibiotics in animal nutrition. *Physiological Reviews*, *34*(1), 25-51.
- Szajdek, A., & Borowska, E. J.** (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of Berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, *63*(4), 147–156.
- Tahirović, A., & Bašić, N.** (2014). Phenolic content and antioxidant activity of *Crataegus monogyna* L. fruit extracts. *Radovi Šumarskog Fakulteta Univerziteta u Sarajevu*, *44*(2), 29–40.
- Tahmasebian, M., Mahmoudi, R., & Shakouri, M. J.** (2020). Probiotic viability, physicochemical characterization and sensory properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juice supplemented with *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii*. *Journal of Chemical Health Risks*, *10*(4), 253–260.
- Talwalkar, A., & Kailasapathy, K.** (2004). A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *3*(3), 117–124.
- Tannock, G. W.** (1997). Probiotic properties of lactic-acid bacteria: Plenty of scope for fundamental R and D. *Trends in Biotechnology*, *15*(7), 270–274.
- Tannock, G. W.** (2001). Molecular assessment of intestinal microflora. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *73*(2), 410-414.
- Tao, T., Ding, Z., Hou, D., Prakash, S., Zhao, Y., Fan, Z., Zhang, D., Wang, Z., Liu, M., & Han, J.** (2019). Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying. *Journal of Food Engineering*, *252*, 10–17.
- Tayo, B. A., & Akpeji, S.** (2016). Probiotic viability, physicochemical and sensory properties of probiotic pineapple juice. *Fermentation*, *2*(4), 20.
- Teixeira, J. S., Seeras, A., Sanchez-Maldonado, A. F., Zhang, C., Su, M. S., & Ganzle, M. G.** (2014). Glutamine, glutamate and arginine-based resistance in *Lactobacillus reuteri*. *Food Microbiology*, *42*, 172-180.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N.** (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, *11*(7), 1591.
- Tieking, M., Ehrmann, M. A., Vogel, R. F., & Gänzle, M. G.** (2005). Molecular and functional characterization of a levansucrase from the sourdough isolate *Lactobacillus sanfranciscensis* TMW 1.392. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *66*(6), 655–663.
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K.** (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, *9*, 225-241.

- Truong, V., Bhandari, B. R., & Howes, T.** (2005). Optimization of co-current spray drying process of sugar-rich foods. Part I—Moisture and glass transition temperature profile during drying. *Journal of Food Engineering*, *71*(1), 55-65.
- Tuorila, H., & Cardello, A. V.** (2002). Consumer responses to an off-flavor in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference*, *13*(7-8), 561-569.
- Tzounis, X., Vulevic, J., Kuhnle, G. G. C., George, T., Leonczak, J., Gibson, G. R., Kwik-Urbe, C., & Spencer, J. P. E.** (2008). Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British Journal of Nutrition*, *99*(4), 782–792.
- Upadhyay, R., & Dass J, F. P.** (2021). Physicochemical analysis, microbial survivability, and shelf life study of spray-dried synbiotic guava juice powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(2), 1–8.
- Valero, D., Valverde, J. M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., & Serrano, M.** (2006). The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, *41*(3), 317–327.
- Vargas-Muñoz, D. P., & Kurozawa, L. E.** (2020). Influence of combined hydrolyzed collagen and maltodextrin as carrier agents in spray drying of cocona pulp. *Brazilian Journal of Food Technology*, *23*, 1–15.
- Vella, M. N., Stratton, L. M., Sheeshka, J., & Duncan, A. M.** (2013). Exploration of functional food consumption in older adults in relation to food matrices, bioactive ingredients, and health. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, *32*(2), 122-144.
- Venskutonis, P. R.** (2018). Phytochemical composition and bioactivities of hawthorn (*Crataegus* spp.): review of recent research advances. *Journal of Food Bioactives*, *4*, 69–87.
- Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A.** (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, *9*(8), 497-505.
- Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A.** (2010). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*(1), 13-19.
- Vladić, J., Ambrus, R., Szabó-Révész, P., Vasić, A., Cvejic, A., Pavlić, B., & Vidović, S.** (2016). Recycling of filter tea industry by-products: Production of a. *Millefolium* powder using spray drying technique. *Industrial Crops and Products*, *80*, 197–206.
- Wang, S. Y., Bunce, J. A., & Maas, J. L.** (2003). Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(15), 4315-4320.
- Weber, D., & Grune, T.** (2012). The contribution of  $\beta$ -carotene to vitamin A supply of humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, *56*(2), 251–258.

- Wen, L., Guo, X., Liu, R. H., You, L., Abbasi, A. M., & Fu, X. (2015). Phenolic contents and cellular antioxidant activity of Chinese hawthorn "*Crataegus pinnatifida*." *Food Chemistry*, *186*, 54–62.
- Wood, J. M. (2011). Bacterial osmoregulation: A Paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annual Review of Microbiology*, *65*(1), 215–238.
- Wu, J., Peng, W., Qin, R., & Zhou, H. (2014). *Crataegus pinnatifida*: Chemical constituents, pharmacology, and potential applications. *Molecules*, *19*, 1685–1712.
- Xavier dos Santos, D., Casazza, A.A., Aliakbarian, B., Bedani, R., Saad, S.M.I. & Perego, P. (2019). Improved probiotic survival to *in vitro* gastrointestinal stress in a mousse containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 microencapsulated with inulin by spray drying. *LWT-Food Science and Technology*, *99*, 404–410.
- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate Polymers*, *298*, 120113.
- Yalçın Dokumacı, K., Uslu, N., Haciseferoğulları, H., & Örnek, M. N. (2021). Determination of some physical and chemical properties of common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq. Var. *monogyna*). *Erwerbs-Obstbau*, *63*(1), 99–106.
- Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I., & Celik, F. (2011). Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific Research and Essays*, *6*(1), 35–38.
- Yaviç, A., Taylan, A., Balci, H., & Encu, T. (2016). Biochemical and pomological characteristics of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits grown in Şemdinli, Hakkari. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, *26*(4), 500–504.
- Ying, D. Y., Phoon, M. C., Sanguansri, L., Weerakkody, R., Burgar, I., & Augustin, M. A. (2010). Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. *Journal of Food Science*, *75*(9), 588–595.
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., & Mousavi, S. M. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica granatum* L.). *Journal of Food Science and Technology*, *48*(6), 677–684.
- Yuksekdag, Z. N., & Aslim, B. (2010). Assessment of potential probiotic and starter properties of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish-type fermented sausages (Sucuk). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *20*(1), 161–168.
- Zanjani, M. A. K., Tarzi, B. G., Sharifan, A., & Mohammadi, N. (2014). Microencapsulation of probiotics by calcium alginate-gelatinized starch with chitosan coating and evaluation of survival in simulated human gastrointestinal condition. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, *13*(3), 843–852.

- Zhang, J., Chai, X., Zhao, F., Hou, G., & Meng, Q.** (2022). Food applications and potential health benefits of hawthorn. *Foods*, *11*(18), 1–21.
- Zhang, L., Zeng, X., Fu, N., Tang, X., Sun, Y., & Lin, L.** (2018). Maltodextrin: a consummate carrier for spray-drying of xylooligosaccharides. *Food Research International*, *106*, 383–393.
- Zheng, G., Deng, J., Wen, L., You, L., Zhao, Z., & Zhou, L.** (2018). Release of phenolic compounds and antioxidant capacity of Chinese hawthorn “*Crataegus pinnatifida*” during *in vitro* digestion. *Journal of Functional Foods*, *40*, 76–85.
- Zhu, J., Li, X., Liu, L., Li, Y., Qi, B., & Jiang, L.** (2022). Preparation of spray-dried soybean oil body microcapsules using maltodextrin: Effects of dextrose equivalence. *LWT-Food Science and Technology*, *154*, 112874.
- Zhu, W., Lyu, F., Naumovski, N., Ajlouni, S., & Ranadheera, C. S.** (2020). Functional efficacy of probiotic *Lactobacillus sanfranciscensis* in apple, orange and tomato juices with special reference to storage stability and *in vitro* gastrointestinal survival. *Beverages*, *6*(1), 13.
- Ziemer, C. J., & Gibson, G. R.** (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. *International Dairy Journal*, *8*(5–6), 473–479.
- Zoghi, A., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S., Attar, H., & Alavi, S. A.** (2019). Survival of probiotics in synbiotic apple juice during refrigeration and subsequent exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, *38*(2), 159-170.
- Zoghi, A., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S., Attar, H., & Alavi, S. A.** (2019). Survival of probiotics in synbiotic apple juice during refrigeration and subsequent exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, *38*(2), 159-170.
- Zorzenon, M. R. T., Formigoni, M., Silva, S. B., Hodas, F., Piovan, S., Ciotta, S. R., Jansen, C. A., Dacome, A. S., Pilau, E. J., Mareze-costa, C. E., Milani, P. G., & Costa, S. C.** (2020). Spray drying encapsulation of stevia extract with maltodextrin and evaluation of the physicochemical and functional properties of produced powders. *Journal of Food Science*, *85*(10), 3590-3600.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Fatma Sezer ÖZTÜRK

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2016, İnönü Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

### MESLEKİ DENEYİM:

- 2020 yılından itibaren İnönü Üniversitesi Malatya OSB Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü'nde Öğr. Grv. olarak görev yapmaktadır.

### DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN ÇALIŞMALAR

- **Öztürk, F. S., Önal, Y. & Gökbulut, İ.** (2022). Alıç (*Crataegus orientalis* subsp.) çekirdeğinin bazı karakteristik özellikleri ve çekirdek yağının yağ asidi bileşen karakterizasyonu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (41), 79-84. DOI: 10.31590/ejosat.1113941
- **Öztürk, F. S. & Gökbulut, İ.** (2022, Ekim). Alıç (*Crataegus orientalis*) meyvesinin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi. International Malidia Health Sciences Congress (pp. 271-272).

### DİĞER ÇALIŞMALAR

#### Ulusal/Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- **Karakaya, H., Ozturk, F. S., Koc, T. B., & Yasar, K.** (2022). Chemical composition and antimicrobial activity of pummelo (*Citrus maxima*) essential oil derived from fruit peel. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(3), 524-535.
- **Karakaya, H., Öztürk, F. S., & Yilmaztekin, M.** (2020). Taze ve olgunlaştırılmış taşköprü sarımsağından (*Allium sativum* L.) Farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin karşılaştırılması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(3), 762-770.
- **Gökbulut, İ., & Öztürk, F. S.** (2018). Gıda mikrokapsülasyonunda aljinat kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2), 16-28.

#### Ulusal/Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Bildiriler

- **Öztürk, F. S. & Gökbulut, İ.** (2022, Ekim). Çilek suyundaki biyoaktif bileşikler ve probiyotik bakteri co-enkapsülasyonu. International Malidia Health Sciences Congress (pp. 154-161).



- **Öztürk, F. S. & Gökbulut, İ.** (2022, Ekim). Kurutulmuş alıç (*Crataegus spp.*) Meyvesinin fizikokimyasal özellikleri, fenolik profili ve antioksidan aktivitesinin incelenmesi. 4. International Göbeklitepe Scientific Research Congress (pp. 427-434).
- **Öztürk, F. S., Karakaya, H., Gökbulut, İ., Atalay, E., & Yılmaztekin, M.** (2020, Ekim). Türkiye’de yetişen kuşburnu (*Rosa canina L.*) meyvelerinin toplam fenolik içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. 2nd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2020) (pp. 779-785).
- **Gökbulut, İ., & Öztürk, F. S.** (2018, İzmir). Biberiye uçucu yağının mikroenkapsülasyonu ve antioksidan aktivite düzeyinin belirlenmesi. 2nd International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF) (pp. 60).
- **Bilenler, T., Karakaya, H., Öztürk, F. S., & Tekelioğlu, K.** (2018, İzmir). Pomelo (*Citrus maxima* Burm. Merrill) uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. 2nd International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF) (pp. 73).
- **Bilenler, T., Karakaya, H., Tekelioğlu, K., & Öztürk, F. S.** (2018, İzmir). Maviyemiş (*Vaccinium myrtillus*) meyvesinin kimyasal kompozisyonu ve fonksiyonel özellikleri. 2nd International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF) (pp. 71).
- **Gökbulut, İ., Öztürk, F. S., Balcıoğlu, S., Ateş, B., & Parlakpınar, H.** (2017, Ekim). Biberiye uçucu yağının aljinat/ nişasta ile enkapsülasyonu ve antikanser özelliğinin araştırılması. International Symposium on Medicinal, Aromatic and Dye Plants. (pp. 157-166).
- **Gökbulut, İ., Öztürk, F. S., Ateş, B., & Parlakpınar, H.** (2017, Mayıs). Investigation of in vivo pharmacokinetic of microcapsulated rosemary essential oil. SANKO Üniversitesi Tıpta İnovasyon Zirvesi (pp. 33).
- **Gökbulut, İ., Öztürk, F. S., Parlakpınar, H., & Ateş, B.** (2016, Temmuz). Delivery kinetics and preparation of rosemary essential oil formulation microencapsulated with alginate starch. 46th IUPAC World Polymer Congress (pp. 220).

### Projeler

- **Hayaloğlu, A. A., Öztürk F. S., & Ergül, S.** (2020, *Devam ediyor*). Kayısı, kayısı pres keki ve çeşnilerle zenginleştirilmiş glutensiz granola üretimi ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje (BAP Proje No: 2280). (Araştırmacı).
- **Gökbulut, İ., Ateş, B., Parlakpınar, H., & Öztürk, F. S.** (2017). Mikroenkapsüle biberiye uçucu yağının *in vitro* ve *in vivo* antioksidan etkisi ve farmakokinetik incelenmesi. TÜBİTAK (Proje No: 214O195). (Bursiyer).