



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTROSPİNNİNG TEKNİĞİYLE PORTAKAL VE KİVİ
POSALARINDAN ÜRETİLEN NANOLİFLERLE
ENKAPSÜLE EDİLEN PROBİYOTİK *Lactobacillus
acidophilus*'UN FONKSİYONEL YOĞURT ÜRETİMİNDE
KULLANIMI**

ERSİN ÇELEM

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ORDU 2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Ersin ÇELEM

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün B-2121 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ELEKTROSPİNNİNG TEKNİĞİYLE PORTAKAL VE KİVİ POSALARINDAN ÜRETİLEN NANOLİFLERLE ENKAPSÜLE EDİLEN PROBİYOTİK *Lactobacillus acidophilus*'UN FONKSİYONEL YOĞURT ÜRETİMİNDE KULLANIMI

ERSİN ÇELEM

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ, 167 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ZEKÂİ TARAKÇI)

(İKİNCİ TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HASAN TEMİZ)

Bu çalışmada, öncelikle elektrospinning tekniğiyle nanolif üretiminde ve probiyotik *Lactobacillus acidophilus* bakterisinin nanoenkapsülasyonunda portakal ve kivi posalarının çözünür diyet lif, şeker ve mineral madde gibi suda çözünür fraksiyonlarını içeren sulu ekstraktlarının (sırasıyla PÇF ve KÇF) ve gliserolün kullanımı amaçlanmıştır. Sonrasında ise üretilen nanolif ve nanoenkapsüle probiyotik hücrelerin fonksiyonel yoğurt üretiminde kullanılmasının, depolama periyodu boyunca, hücrelerin canlılıklarına ve yoğurdun bazı özelliklerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltileri, çözünür kuru madde üzerinden 100:0, 95:5, 90:10 ve 85:15 oranlarında pullulan/PÇF veya pullulan/KÇF içerecek şekilde hazırlanmıştır. Probiyotik hücre, gliserol ve hücre-gliserol içeren nanoliflerin üretiminde 100:0 ve 95:5 oranları seçilmiştir. Gliserol içeren nanoliflerin üretiminde, polimer çözeltileri %3 oranında gliserol içerecek şekilde ayarlama yapılmıştır. PÇF ve KÇF'nin polimer çözeltilerinin viskozitelerini önemli derecede düşürdüğü ve iletkenliklerini önemli derecede arttırdığı ($P<0.05$); gliserol ve probiyotik hücrelerin viskoziteyi önemli derecede arttırdığı ve hücre ilavesiyle iletkenliğin önemli derecede yükseldiği tespit edilmiştir ($P<0.05$). Çalışmada elektrospinning işlemi, çözelti son konsantrasyonu %13 (w/v), voltaj 15 kV, çözelti besleme hızı 0.9mL/h ve mesafe 14cm olacak şekilde uygulanmış ve üretilen matların SEM görüntüleri incelendiğinde, tüm polimer çözeltilerinden başarılı bir şekilde nanolifler üretildiği görülmüştür. PÇF veya KÇF ilaveli nanoliflerin (81-170 nm), sadece pullulan (241 nm) içeren nanoliflere göre, ortalama çaplarının daha küçük olduğu ve gliserol ve/veya hücre içeren nanoliflerin ortalama çaplarının önemli derecede daha yüksek oldukları tespit edilmiştir ($P<0.05$). Elektrospun nanoliflerinde PÇF, KÇF, gliserol ve probiyotik hücrelerin varlığı, FTIR ve TG-DSC analizleriyle doğrulanmıştır. PÇF, KÇF, gliserol ve probiyotik hücre içeren nanoliflerin zeta potansiyel değerlerinin, sadece pullulan içeren nanolife göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. KÇF veya PÇF ilaveli ancak gliserol içermeyen çözeltilerden üretilen nanoliflerde, *Lactobacillus acidophilus* canlılık oranlarının önemli derecede daha yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür (sırasıyla %97 ve

%93.78, $P<0.05$). Yoğurt ortamında, depolama süresinin sonunda (20 gün) nanoliflerle kapsüllenmiş *L. acidophilus* hücrelerinin canlılığı en iyi şekilde korunmuş (6.89-7.02 log kob/g), bunu nanoliflerle bir arada bulunan serbest hücreler (6.15-6.54 log kob/g) takip etmiştir. Ayrıca, *in vitro* gastrointestinal koşullarda da benzer sonuçlar tespit edilmiştir. Nanolif katkılı yoğurtlarda sinerezis oranı, kontrol örneğine göre önemli derecede daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Nanolif katkılı yoğurt örneklerinin tamamı kontrol örneğine (KY) göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, en yüksek antioksidan aktivite PÇF veya KÇF içeren nanolif ilaveli yoğurt örneklerinde belirlenmiştir. Nanolif içeren yoğurt örneklerinin tekstürel değerleri, depolama süresince, kontrol örneğine göre daha yüksektir. Ayrıca, nanolif ilavesiyle üretilen fonksiyonel yoğurt örneklerinin, duyu kalite açısından kabul edilebilir oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, portakal ve kivi meyvesi posalarından elde edilen sulu ekstraktların elektrospinning tekniği ile nanolif üretimi ve probiyotik hücrelerin enkapsülasyonu üzerinde olumlu etkilerinin olduğu; probiyotik hücreleri ve bir kriyoprotektan olan gliserolü enkapsüle şekilde bir arada içeren pullulan-posa sulu ekstraktı bazlı nanoliflerin üretilebileceği ve ayrıca bu nanoliflerin fonksiyonel yoğurt üretiminde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Elektrospinning, Gliserol, Meyve Posası, Nanoenkapsülasyon, Nanolif, Polimer, Probiyotik Yoğurt.

ABSTRACT

THE USE OF PROBIOTIC *Lactobacillus acidophilus* ENCAPSULATED WITH NANOFIBERS PRODUCED FROM ORANGE AND KIWI POMACE BY ELECTROSPINNING TECHNIQUE IN THE PRODUCTION OF FUNCTIONAL YOGURT

ERSİN ÇELEM

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

FOOD ENGINEERING

PHD THESIS, 167 PAGES

(SUPERVISOR: PROF. DR. ZEKAİ TARAKÇI)

(CO-SUPERVISOR: PROF. DR. HASAN TEMİZ)

In this study, it was primarily aimed to use aqueous extracts, containing water-soluble components such as soluble dietary fiber (SDF), sugar and mineral matter, of orange and kiwi pomaces (PÇF and KÇF, respectively), and glycerol in the production of nanofiber and nanoencapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* bacteria by electrospinning method. Then, the effects of using these nanofibers and encapsulated probiotic cells in the production of functional yogurt on some properties of yogurt and the viability of cells during the storage period were investigated.

The polymer solutions used in the nanofiber production in the study contained pullulan/PÇF or pullulan/KÇF at ratios of 100:0, 95:5, 90:10, and 85:15 as soluble dry matter. Among mentioned concentrations, 100:0 and 95:5 ratios were selected in the production of nanofibers containing probiotic cells, glycerol and cell-glycerol. In the production of glycerol-containing nanofibers, the polymer solutions were adjusted to contain 3% glycerol. It was found that PÇF and KÇF decreased the viscosity and increased the conductivity of polymer solutions, significantly ($P<0.05$); glycerol and probiotic cells significantly increased the viscosity while the conductivity increased significantly with the addition of cells ($P<0.05$). In the study, the electrospinning process was carried out with a final solution concentration of 13% (w/v), voltage of 15 kV, solution feed rate of 0.9mL/h, and distance of 14 cm. SEM images of the produced mats showed that nanofibers were successfully produced from all polymer solutions. It was found that nanofibers containing PÇF or KÇF (81-170 nm) had smaller average diameters than nanofibers containing only pullulan (241 nm), and the average diameters of nanofibers containing glycerol and/or cells were significantly higher ($P<0.05$). The presence of PÇF, KÇF, glycerol, and probiotic cells in electrospun nanofibers was confirmed by FTIR and TG-DSC analyses. It was found that the zeta potential values of nanofibers containing PÇF, KÇF, glycerol, and probiotic cells were higher than the nanofibers containing only pullulan. *Lactobacillus acidophilus* viability rates were significantly higher in nanofibers produced from solutions with KÇF or PÇF but without glycerol (97% and 93.78% respectively, $P<0.05$). In yogurt medium, the viability of *L. acidophilus* cells

encapsulated in nanofibers was maintained best (6.89-7.02 log cfu/g), followed by free cells coexisting with nanofibers (6.15-6.54 log cfu/g) at the end of the storage period (20 days). Similar results were also found under *in vitro* gastrointestinal conditions. The syneresis rate of nanofiber-added yogurts was found to be significantly lower than the control sample ($P<0.05$). All nanofiber-added yogurt samples possessed higher antioxidant activity than the control sample (KY), while the highest was determined in yogurt samples containing nanofibers with PCF or KCF. The textural values of yogurt samples containing nanofibers were higher than the control sample during storage. Also, it was determined functional yogurt samples produced with nanofiber addition were acceptable in terms of sensory quality. In conclusion, it has been determined that aqueous extracts obtained from orange and kiwi fruit pomaces have positive effects on the production of nanofibers and encapsulation of probiotic cells by electrospinning technique; that pullulan-pomace aqueous extract based nanofibers containing a combination of probiotic cells and glycerol, a cryoprotectant, can be produced, and finally, these nanofibers can be utilized in the production of functional yogurt.

Keywords: Electrospinning, Glycerol, Fruit Pomace, Nanoencapsulation, Nanofiber, Polymer, Probiotic Yogurt.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tüm aşamalarında desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zekai TARAKÇI'ya, emek ve katkılarından dolayı tez izleme komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sümeyye ŞAHİN'e ve ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Hasan TEMİZE'e,

Katkılarından dolayı tez savunma jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Şerafettin ÇELİK ve Sayın Doç. Dr. Atilla ŞİMŞEK'e,

Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Ömer EROĞLU, Dr. Hasan İLHAN, Dr. Öğr. Üyesi Yasin ALTIN ve Doç. Dr. Yunus Emre TUNÇİL'e,

Yardımlarından dolayı Ordu Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü akademik personeli Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk ÇELİK, Arş. Gör. Mehmet Akif KARAGÖL, Arş. Gör. Emre TURAN ve Dr. Fidan Özge TIKILOĞLU'na ve ODÜ Merkezi Laboratuvar teknik personeli Kimya Mühendisi İlhan İRENDE'ye

Laboratuvarlarımı kullandığım Sayın Doç. Dr. Burhan ÖZTÜRK ve Arş. Gör. Sefa GÜN'e

Şeker analizinde yardımcı olan Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ve Teknik Personeli'ne

B-2121 numaralı proje ile çalışmamı mali olarak destekleyen Ordu Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi ve personeline,

Aynı zamanda, dualarını ve manevi desteklerini esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİL LİSTESİ	X
ÇİZELGE LİSTESİ	XII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	XV
EKLER LİSTESİ	XVI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Enkapsülasyon.....	4
2.1.1 Püskürtmeli Kurutma.....	5
2.1.2 Ekstrüzyon.....	5
2.1.3 Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon).....	6
2.1.4 Süperkritik Akışkan Yöntemi.....	6
2.1.5 Santrifüjleme.....	7
2.1.6 Emülsiyon Polimerizasyonu.....	7
2.1.7 Sol-Jel Metodu.....	7
2.1.8 Kompleks Koaservasyon.....	7
2.1.9 Solvent Evaporasyonu.....	8
2.2 Nanolif ve Elektrospinning Prosesi.....	8
2.2.1 Elektrospinning Tekniğiyle Nanolif Üretiminde Önemli Parametreler.....	9
2.2.1.1 Çözelti ve Çözücü Parametreleri.....	11
2.2.1.2 Proses Parametreleri.....	12
2.2.1.3 Çevresel Parametreler.....	14
2.2.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimerler.....	16
2.2.2.1 Pullulan.....	18
2.3 Meyve Endüstriyel Atıkları ve Bileşimi.....	19
2.3.1 Diyet Lif.....	20
2.4 Portakal.....	22
2.5 Kivi.....	22
2.6 Gliserol.....	23
2.7 Probiyotik.....	23
2.8 Yoğurt.....	26
2.9 Önceki Çalışmalar.....	28
3. MATERYAL ve YÖNTEM	33
3.1 Materyal.....	33
3.2 Yöntem.....	33
3.2.1 Portakal ve Kivi Posalarının Elde Edilmesi.....	33
3.2.2 Portakal ve Kivi Posalarından Suda Çözünür Fraksiyonların Elde Edilmesi ...	34
3.2.3 Süpernatantlarda Yapılan Analizler.....	34
3.2.3.1 pH Analizi.....	35
3.2.3.2 Suda Çözünür Kurumadde (SÇKM) Analizi.....	35
3.2.3.3 Şeker Analizi.....	35

3.2.3.4 Kül Analizi	36
3.2.3.5 Çözünür Diyet Lif (ÇDL) Analizi	36
3.2.4 Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması	36
3.2.5. Polimer Çözeltilerinde Yapılan Analizler	39
3.2.5.1 pH Analizi	40
3.2.5.2 İletkenlik Analizi	40
3.2.5.3 Yüzey Gerilimi Analizi	40
3.2.5.4 Viskozite Analizi	40
3.2.6 Probiyotik Hücre Süspansiyonlarının Hazırlanması	40
3.2.7 Elektrospinning İçin Koşulların Optimizasyonu	41
3.2.8 Nanolif Üretimi ve Probiyotiklerin Enkapsülasyonu	42
3.2.9 Nanoliflerde Yapılan Analizler	43
3.2.9.1 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi	44
3.2.9.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi	44
3.2.9.3 Termal Karakterizasyon (TG-DSC)	44
3.2.9.4 Zeta Potansiyeli Analizi	44
3.2.9.5 Probiyotik Hücre İçeren Polimer Çözeltilerinde ve Nanoliflerde Hücre Sayısı Tespiti	45
3.2.10 Yoğurt Üretimi ve Yoğurt Örneklerinde Yapılan Analizler	45
3.2.10.1 Yoğurt Üretimi	45
3.2.10.2 Mikrobiyolojik Analizler	48
3.2.10.2.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un Yoğurt Koşullarında Canlılık Analizleri ...	48
3.2.10.2.2 Yoğurt Örneklerinde <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ve <i>S. thermophilus</i> Sayısı Tespiti	49
3.2.10.2.3 Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Sayısı Tespiti	49
3.2.10.2.4 Simüle Gastrointestinal Suların (SGI) Hazırlanması ve Yoğurt Örneklerinde Bulunan Probiyotiklerin Gastrointestinal Koşullarda Canlılık Analizleri	49
3.2.10.3 Fizikokimyasal Analizler	50
3.2.10.3.1 Kurumadde ve Kül Analizi	50
3.2.10.3.2 pH ve Titrasyon Asitliği Analizi	50
3.2.10.3.3 Serum Ayrılması Analizi	51
3.2.10.4 Radikal Süpürücü Yöntemlerle Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	51
3.2.10.5 Tekstür Profil Analizi	52
3.2.10.6 Duyusal Değerlendirme	52
3.2.11 İstatistiksel Analizler	53
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	54
4.1 Süpernatantlarda Yapılan Analizlerin Bulguları	54
4.2 Polimer Çözeltilerinde Yapılan Analizlerle İlgili Bulgular	54
4.2.1 Viskozite	54
4.2.2 Yüzey gerilimi	57
4.2.3 İletkenlik	58
4.2.4 pH	60
4.3 Nanoliflerde Yapılan Analizlerin Bulguları	62
4.3.1 Nanoliflerin Morfolojileri ve Çap Uzunlukları	62
4.3.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	68
4.3.3 Termal Karakterizasyon (TG-DSC)	72
4.3.4 Zeta Potansiyeli	75

4.3.5 <i>Lactobacillus acidophilus</i> İçeren Polimer Çözeltilerinde ve Nanoliflerde Hücre Sayıları.....	80
4.4 Yoğurt Örneklerinde Yapılan Analizlerin Bulguları.....	85
4.4.1 Mikrobiyolojik Analizlerin Bulguları	85
4.4.1.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un Yoğurt Koşullarında Canlılık Sayıları.....	85
4.4.1.2 Yoğurt Örneklerinde <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> Sayıları.....	89
4.4.1.3 Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Sayısı.....	95
4.4.1.4 Yoğurt Örneklerinde Bulunan Probiyotik <i>L. acidophilus</i> 'un İnvitro Gastrointestinal Koşullarda Canlılık Sayıları	96
4.4.2 Fizikokimyasal Özellikler	102
4.4.2.1 Kurumadde ve Kül Miktarı	102
4.4.2.2 pH ve Titrasyon Asitliği.....	104
4.4.2.3 Serum Ayrılması	108
4.4.3 Yoğurt Örneklerinin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri.....	110
4.4.4 Tekstür Profil Analizine Ait Bulgular.....	116
4.4.4.1 Sertlik	116
4.4.4.2 Kıvam.....	119
4.4.4.3 Yapışkanlık	121
4.4.4.4 Viskozite İndeksi.....	124
4.4.5 Duyusal Değerlendirme Bulguları	126
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	132
6. KAYNAKLAR	139
EKLER.....	165
ÖZGEÇMİŞ.....	167

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Elektrospinning Sistemi.....	10
Şekil 2.2 Elektrospinning Prosesi	10
Şekil 2.3 Boncuklu ve Düz Liflerin SEM Görüntüleri	13
Şekil 2.4 İğne Ucu İle Kollektör Arasındaki Mesafeye (5, 10, 15 ve 20 cm) Bağlı Olarak Oluşan Lif Ağlarının Ortalama Çapları	14
Şekil 2.5 Farklı Sıcaklık ve Nem Oranlarında Oluşan Nanoliflerin SEM Görüntüleri	15
Şekil 2.6 Bağlı Nemin Lif Morfolojisi Üzerindeki Etkisinin Şematik Gösterimi	16
Şekil 2.7 Pullulanın Kimyasal Yapısı	19
Şekil 3.1 Çalışmanın Aşamaları.....	33
Şekil 3.2 Posalardan Sulu Ekstraktların (KÇF ve PÇF) Üretimi Akış Şeması.....	35
Şekil 3.3 %20 (a) ve 15 (b) Konsantrasyonlarda Pullulan Çözeltilerinden Elde Edilen Liflerin Optik Mikroskobu Görüntüleri.....	38
Şekil 3.4 Sırasıyla PS, PPÇS ve PKÇS Ana Polimer Çözeltileri	38
Şekil 3.5 Elektrospinning Prosesi Koşulları	42
Şekil 3.6 Elektrospinning Sistemi ve Nanolif Üretimiyle İlgili Görüntüler	43
Şekil 3.7 Probiyotik ve/veya Nanolif İlavesiyle Fonksiyonel Yoğurt Üretimi.....	46
Şekil 3.8 Gliserol İçermeyen (A) ve Gliserol İçeren (B) Nanolif Matlarının Soldan Sağa Doğru Sırasıyla, Başlangıçta ve Su Ortamında 30 Dakika Sonraki Görüntüleri	47
Şekil 3.9 Duyusal Değerlendirme Formu	52
Şekil 4.1 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Viskozite Ortalama Değerleri	55
Şekil 4.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Yüzey Gerilimi Ortalama Değerleri	58
Şekil 4.3 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin İletkenlik Ortalama Değerleri	59
Şekil 4.4 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin pH Ortalama Değerleri	61
Şekil 4.5 %90 Pullulan-%10 KÇF (PKÇF-10), %85 Pullulan-%15 KÇF (PKÇF-15), %90 Pullulan-%10 PÇF (PPÇF-10) ve %85 Pullulan-%15 PÇF (PPÇF-15) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri.....	62
Şekil 4.6 %100 Pullulan (PF) ve %100 Pullulan-Gliserol (PGF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri	63
Şekil 4.7 %95 Pullulan-%5 KÇF (PKÇF) ve %95 Pullulan-%5 KÇF-Gliserol (PKÇGF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden)	63
Şekil 4.8 %95 Pullulan-%5 PÇF (PPÇF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF-Gliserol (PPÇGF) İçeren Nanoliflerinin SEM Görüntüleri.....	64
Şekil 4.9 %100 Pullulan-Gliserol- <i>L. acidophilus</i> (PGPF), %95 Pullulan-%5 KÇF- Gliserol- <i>L. acidophilus</i> (PKÇGPF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF-Gliserol- <i>L.</i> <i>acidophilus</i> (PPÇGPF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri.....	64

Şekil 4.10 %100 Pullulan- <i>L. acidophilus</i> (PPF), %95 Pullulan-%5 KÇF- <i>L. acidophilus</i> (PKÇPF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF- <i>L. acidophilus</i> (PPÇPF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri.....	65
Şekil 4.11 Farklı Oranlarda KÇF/PÇF İçeren Nanoliflerin Ortalama Çap Uzunlukları	66
Şekil 4.12 Nanoliflerin FTIR Spektrumları	69
Şekil 4.13 Nanoliflerin Termogramları.....	72
Şekil 4.14 Nanoliflerin TGA Analizi Sonucunda Krozelerdeki Görünümleri	73
Şekil 4.15 Nanoliflerin DSC Grafikleri	76
Şekil 4.16 Nanoliflerin Sulu Çözeltilerinde Konsantrasyona Göre Zeta Potansiyeli Ortalama Değerlerinin Değişimi	78
Şekil 4.17 Polimer Çözeltilerine İlave Edilen Toplam <i>L. acidophilus</i> Hücre Sayısı ve Bu Sayının Farklı Polimer Çözeltilerinde Değişimi.....	81
Şekil 4.18 Polimer Çözeltilerinden <i>L. acidophilus</i> Hücreleri İçeren Nanoliflerin Üretiminde Hücrelerin Canlı Kalma Oranları	83
Şekil 4.19 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, <i>Lactobacillus acidophilus</i> Ortalama Sayılarındaki Değişim.....	86
Şekil 4.20 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Ortalama Sayılarındaki Değişim	91
Şekil 4.21 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, <i>Streptococcus thermophilus</i> Ortalama Sayı Değerlerinde Meydana Gelen Değişim	93
Şekil 4.22 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde <i>L. acidophilus</i> Hücrelerinin Canlı Kalma Oranları.....	100
Şekil 4.23 Yoğurt Örneklerinin % KM ve Kül Ortalama Değerleri.....	103
Şekil 4.24 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince pH Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	105
Şekil 4.25 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Titrasyon Asitliği (%LA) Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	107
Şekil 4.26 Yoğurt Örneklerinde Meydana Gelen Serum Ayrılması Miktarlarının (%) Depolama Periyodu Süresince Değişimi	109
Şekil 4.27 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerinde (mg/L) Meydana Gelen Değişimler	112
Şekil 4.28 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerinde (mg/L) Meydana Gelen Değişimler	113
Şekil 4.29 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Sertlik Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişim	118
Şekil 4.30 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Kıvam Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişim	120
Şekil 4.31 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Yapışkanlık Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	123
Şekil 4.32 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Viskozite İndeksi Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	125

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Enkapsülasyon Yöntemleri.....	5
Çizelge 3.1 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Kodları ve Bileşimi.....	39
Çizelge 3.2 Literatüre Göre Pullulan Polimer Çözeltilerinden Nanolif Üretiminde Yapıldığı Koşullar	41
Çizelge 3.3 Deneysel Nanolifler ve Bileşimi.....	43
Çizelge 3.4 Deneysel Yoğurt Örneklerinin Bileşimi	47
Çizelge 4.1 Süpernatantların Bileşiminde Bulunan Önemli Maddelerin Oranları (%) ve pH Değerleri	54
Çizelge 4.2 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Viskozite Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	55
Çizelge 4.3 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Yüzey Gerilimi Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	57
Çizelge 4.4 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin İletkenlik Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	59
Çizelge 4.5 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin pH Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	61
Çizelge 4.6 Farklı Oranlarda KÇF/PCF İçeren Nanoliflerin Ortalama Çap Uzunlukları	66
Çizelge 4.7 Nanoliflerin Zeta Potansiyeli Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	77
Çizelge 4.8 Nanoliflerin Farklı Kontrasyonlarındaki Sulu Çözeltilerinde Zeta Potansiyeli ve Bazı Özelliklerine Ait Ortalama Değerleri İle Standart Sapmalar	77
Çizelge 4.9 Polimer Çözeltilerine İlave Edilen ve Polimer Çözeltilerinde Tespit Edilen Toplam <i>L. acidophilus</i> Sayı Değerleri	81
Çizelge 4.10 Polimer Çözeltilerinde ve Bu Çözeltilerden Üretilen Nanoliflerde Belirlenen Toplam Canlı Hücre Sayıları (log kob)	82
Çizelge 4.11 Polimer Çözeltilerinden <i>L. acidophilus</i> Hücresi İçeren Nanoliflerin Üretiminde Hücrelerin Canlı Kalma Oranları (%)	82
Çizelge 4.12 Yoğurt Örneklerinin <i>Lactobacillus acidophilus</i> Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	85
Çizelge 4.13 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen <i>Lactobacillus acidophilus</i> Ortalama Sayıları (log kob/g) ve Standart Sapmalar	86
Çizelge 4.14 Yoğurt Örneklerinin <i>Lactobacillus bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	90
Çizelge 4.15 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Ortalama Sayı Değerleri (log kob/g) ve Standart Sapmalar	91
Çizelge 4.16 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen <i>Streptococcus thermophilus</i> Ortalama Sayıları (log kob/g) ve Standart Sapmalar	92

Çizelge 4.17 İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde <i>Lactobacillus acidophilus</i> Sayılarında Meydana Gelen Düşüş Değerlerine (log kob/g) ve Hücrelerin Canlı Kalma Oranlarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	97
Çizelge 4.18 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde <i>L. acidophilus</i> Sayılarında Meydana Gelen Düşüş Ortalama Değerleri (log kob/g) ve Standart Sapmalar	98
Çizelge 4.19 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde <i>L. acidophilus</i> Hücrelerinin Canlı Kalma Oranları (%).....	100
Çizelge 4.20 Yoğurt Örneklerinin % KM ve Kül Ortalama Değerleri İle Standart Sapmalar	103
Çizelge 4.21 Yoğurt Örneklerinin pH ve Titrasyon Asitliği (%LA) Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	104
Çizelge 4.22 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Tespit Edilen pH Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	105
Çizelge 4.23 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Tespit Edilen Titrasyon Asitliği Ortalama Değerleri (%LA) ve Standart Sapmalar.....	106
Çizelge 4.24 Yoğurt Örneklerinde Ayrılan Serum Miktarlarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları	108
Çizelge 4.25 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Meydana Gelen Serum Ayrılmalarına Ait Yüzde (%) Ortalama Değerler ve Standart Sapmalar	109
Çizelge 4.26 Yoğurt Örneklerinin DPPH ve ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	111
Çizelge 4.27 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri (mg/L).....	112
Çizelge 4.28 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri (mg/L).....	113
Çizelge 4.29 Yoğurt Örneklerinin Sertlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	116
Çizelge 4.30 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Sertlik Ortalama Değerleri ve Standart Sapmaları.....	117
Çizelge 4.31 Yoğurt Örneklerinin Kıvam Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	119
Çizelge 4.32 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Kıvam Ortalama Değerleri ve Standart Sapmaları.....	119
Çizelge 4.33 Yoğurt Örneklerinin Yapışkanlık Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	122
Çizelge 4.34 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Yapışkanlık Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	122
Çizelge 4.35 Yoğurt Örneklerinin Viskozite İndeksi Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	124
Çizelge 4.36 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Viskozite İndeksi Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar	124
Çizelge 4.37 Yoğurt Örneklerinin Duyusal Değerlendirme Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	127

Çizelge 4.38	Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Görünüş- Renk Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar.....	128
Çizelge 4.39	Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Yapı- Kıvam Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar ...	129
Çizelge 4.40	Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Lezzet Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar	130
Çizelge 4.41	Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Genel Kabul Edilebilirliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar	131

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

ANOVA	: Varyans Analizi
°C	: Santigrat Derece
CO₂	: Karbondioksit
ÇDL	: Çözünür Diyet Lif
ÇZDL	: Çözünmez Diyet Lif
DL	: Diyet Lif
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FOS	: Fruktooligosakkarit
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
h	: Saat
kob	: Koloni Oluşturan Birim
kV	: Kilovolt
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
log	: Logaritma
nm	: Nanometre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µm	: Mikrometre
µL	: Mikrolitre
mN	: Milinewton
µS	: Mikrosiemens
mV	: Milivolt
NaOH	: Sodyum Hidroksit
Pa	: Paskal
PEO	: Polietilen Oksit
PVA	: Polivinil Alkol
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TDL	: Toplam Diyet Lif
TG	: Termogravimetrik
UV	: Ultraviyole
XRD	: X-ışını Kırınım Difraktometresi
YC	: Yoğurt Kültürü

EKLER LİSTESİ

Sayfa

EK 1: İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Boyunca <i>L. acidophilus</i> Ortalama Sayıları.....	166
---	-----

1. GİRİŞ

Günümüzde, sağlık üzerinde yararlı etkileri bulunan prebiyotik, probiyotik ve diğer biyoaktif bileşiklerin, gıda takviyesi olarak kullanımı ve gıdalara ilavesi şeklinde fonksiyonel gıdaların üretimi giderek artmaktadır (Đorđević ve ark., 2015). Ancak vitaminler, polifenolik antioksidanlar, omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve probiyotikler gibi biyoaktif bileşikler, düşük stabiliteye sahip olduklarından işleme, taşıma, pazarlama ve depolama aşamasında, gıda ortamında ve gastrointestinal sistemde olumsuz etkilenmekte ve buna bağılı olarak yeterli düzeyde yararlı etkileri görülememektedir (Xu ve ark., 2022a). Biyoaktif bileşiklerin oksijen, ışık, sıcaklık ve asit gibi olumsuz parametrelerden korunması ve gıda ortamında kontrollü veya yavaş salınımları için önemli uygulamalardan biri, enkapsülasyondur (Ezhilarasi ve ark., 2013). Gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan kapsülleme teknikleri, püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma, emülsifikasyon ve ekstrüzyon yöntemleridir. Ancak bu yöntemler, yüksek sıcaklık (170-220°C), oksidatif stres ve organik çözücülerin ve çok adımlı işlemlerin kullanımından dolayı önemli düzeyde hücre ölümlerine neden olmaktadır (Ma ve ark., 2021). Ayrıca geleneksel kapsülasyon yöntemleriyle üretilen probiyotik mikrokapsül boyutlarının büyük olması ve kontrol edilmesindeki zorluklar, bu yöntemlerin diğer bazı dezavantajları olarak görülmektedir (Xu ve ark., 2022a). Son zamanlarda bu alanda benzer özellikteki elektrospraying (elektroyayma, partikül üretimi) ve elektrospinning (elektrodöndürme, mikro/nano-lif üretimi) gibi alternatif teknolojiler ilgi görmektedir (Jacobsen ve ark., 2018).

Elektrospinning, olumsuz koşullardan korumak ve biyoyararlanımlarını arttırmak amacıyla, probiyotik ve diğer biyoaktif bileşiklerin mikro/nano-enkapsülasyonlarında kullanılan yeni bir yöntemdir. Bu yöntemde, bir polimer çözeltisi yüksek voltajlı bir kılcal uçtan geçirilmekte ve çözücünün buharlaşmasıyla birlikte döndürülerek iplik haline getirilmekte ve böylece mikro/nano-lif elde edilmektedir (Hamori ve ark., 2014). Bu polimer çözeltisine herhangi bir bileşen veya mikroorganizma ilave edildiği zaman, mikro/nano-lifler oluşurken, ilave edilen bileşen veya mikroorganizmalar da bu mikro/nano-liflerin bünyesinde kalmakta ve böylelikle enkapsülasyon meydana gelmektedir.

Elektrospinning tekniğiyle yüksek kapsülleme verimliliğinin sağlandığı, kapsüllenmiş materyalin salınımının sürekli hale geldiği, yüksek düzeyde termal, ışık ve depolama stabilitesinin sağlandığı ve biyoaktif bileşiklerin, kimyasal bozulmaya karşı korunmasında daha etkili sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Anu Bhushani ve Anandharamakrishnan, 2014). Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada elektrospinning tekniğiyle çözünür diyet lif (ÇDL)'ten üretilen nanolif ve filmlerde enkapsüle şekilde tutulan α -tokoferolün, ısıl işlem ve UV ışınlarına karşı ve oda sıcaklığında depolama süresince, kimyasal bozulma açısından önemli düzeyde korunduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2016). Probiyotik hücrelerle ilgili yapılan çalışmalarda, elektrospinning tekniğiyle, nanoliflerde enkapsüle şekilde immobilize edilen probiyotik *Lactobacillus acidophilus*'un termal stabilitesinin arttığı (Fung ve ark., 2011) ve çeşitli sıcaklıklarda (Nagy ve ark., 2014) ve in-vitro olarak mide-bağırsak koşullarında canlılık sayılarının (Laelorspoen ve ark., 2014) önemli düzeyde korunduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise, nanoenkapsüle *Bifidobacterium animalis* Bb12'nin -20°C, 4°C ve oda sıcaklığında canlılık sayılarının önemli düzeyde korunduğu bildirilmiştir (López-Rubio ve ark., 2009).

Ayrıca geleneksel yöntemlerin aksine elektrospinning teknolojisi, özellikle mikroorganizmaların enkapsülasyonunda son derece önemli olan, biyopolimerlerin sulu çözeltilerinin kullanılmasına izin veren basit ve uygun maliyetli bir yöntem olarak görölmektedir (Ma ve ark., 2021). Elektrospinning veya elektrospraying prosesi süresince, hücrelerin canlılıklarının önemli düzeyde etkilenmediği (López-Rubio ve ark., 2009; López-Rubio ve ark., 2012), diğer geleneksel yöntemlerde ise önemli oranlarda canlılık kayıplarının meydana geldiği de bildirilmiştir (Rokka ve Rantamaki, 2010).

Bununla birlikte elektrospinning prosesi süresince, probiyotik hücrelerin canlılık sayılarını daha yüksek düzeyde tutmak amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan dikkat çeken bir uygulama, enkapsülasyonda kullanılan polimer çözeltilerine prebiyotik maddelerin ilave edilmesidir. Bu uygulamanın, kapsüllenmiş probiyotiklerin canlılık oranlarını arttırdığı bildirilmiştir (Deng ve Zhang, 2020). Duman ve Karadağ (2021), da çalışmalarında polimer çözeltilerine inülin ilavesinin, hem elektrospinning prosesi sırasında hem de enkapsüle edilen hücrelerin

depolanması sırasında, hücrelerin canlılıkları üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Elektrospinning tekniğiyle enkapsülasyon amacıyla üretilen nanoliflerin, probiyotik hücrelerin canlılık düzeylerini ve termal stabilitelerini iyileştirmek hususunda uygun bir tutunma yapısında olduklarından fonksiyonel gıdaların gelişimi için alternatif bir yaklaşım sağladığı bildirilmiştir (Feng ve ark., 2018). Yoğurt ortamında probiyotik bakterilerin canlılıklarını etkileyen ana faktör, fermantasyon sonrası ve depolama aşamasında gelişen asitliktir (Sandoval-Castilla ve ark., 2010). Özellikle yoğurt gibi düşük pH'lı dolayısıyla yüksek asitli gıdalarda ve gastrointestinal koşullarda probiyotiklerin canlı hücre sayısının yüksek olması ile canlılık sürelerinin uzaması, probiyotik gıda endüstrisi için son derece önemlidir (Khorasani ve Shojaosadati, 2017). Gıda ortamında probiyotik hücre stabilitelerini arttırmak amacıyla yapılan uygulamaların, gıdaların organoleptik ve kalitatif özelliklerini kabul edilemeyecek düzeyde olumsuz etkilememeleri de son derece önemli görülmektedir (Đorđević ve ark., 2015). Bu doğrultuda yapılan bu çalışmada, elektrospinning yöntemiyle probiyotik nitelikteki *Lactobacillus acidophilus* bakterisinin yüksek canlı hücre sayısında enkapsülasyonunun gerçekleştirilmesi ve enkapsüle edilen bu probiyotik bakterinin model bir ürün olarak fonksiyonel yoğurt üretiminde kullanılması ve depolama periyodunda canlılıklarını sürdürebilmeleri amacıyla çeşitli uygulamalar yapılmıştır. Bu uygulamalar kapsamında, nanolif üretiminde kullanılan pullulan polimer çözeltisine, portakal ve kivi posası (ÇDL, şeker, mineral madde gibi suda çözünür bileşenler içermekte) sulu ekstraktları ve gliserol ilave edilmiştir. Ayrıca nanolif ile enkapsüle probiyotik hücrelerin yoğurda ilavesinin, yoğurdun kalitatif ve duyuşal özelliklerine etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Enkapsülasyon

Kapsülleme, mikrometre veya nanometre ölçeğinde kapsüller oluşturmak için biyoaktif bileşiklerin (aktif maddeler) bir taşıyıcı (duvar malzemesi veya kapsülleyici) ile kapatıldığı veya kaplandığı bir işlem olarak bilinmektedir (Bamidele ve Emmambux, 2020). Probiyotik mikroorganizma hücrelerinin ve diğer biyoaktif maddelerin kapsüllemesi, bunların taşınması, pazarlanması ve depolanması sırasında ve bunların ilavesiyle üretilen fonksiyonel gıdaların üretimi ve depolanması sürecinde, bunların çeşitli olumsuz koşullara (yüksek sıcaklık, yüksek nem, yüksek oksijen seviyesi, yüksek asitlik veya düşük pH, ışık vb.) karşı korunmalarını sağlamakta ve stabilitelelerini arttırmaktadır (Xu ve ark., 2022a; Zabet ve ark., 2022). Ayrıca enkapsülasyon, biyoaktif bileşenlerin ticari ürünlerde veya insan vücudunda kontrollü/hedefli salınımını da sağlamaktadır (Faridi Esfanjani ve ark., 2018). Kapsülleme işleminde yapı malzemesi olarak biyopolimerler kullanılmaktadır. Biyopolimerler, petrolden elde edilen sentetik polimerler, yenilenebilir kaynaklardan elde edilen sentetik polimerler ve doğal olarak üretilen yenilenebilir polimerler olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadırlar. Polietilen, polietilen glikol, polivinilpirolidon, polivinil alkol, poliakrilik asit, polilaktik asit ve polihidroksialkanoatlar sentetik polimerlere; Kitosan, gam maddeleri (örneğin Arap zıncı, Ksantan zıncı, Akasya zıncı ve Gomalak), maltodekstrin, pektin, nişasta, peyniraltı suyu proteini, sodyum aljinat, selüloz ve karboksimetil selüloz, zein, pullulan, galaktomannan ve sodyum kazeinat ise doğal polimerlere örnek olarak verilmektedir (Zabet ve ark., 2022).

Mikrokapsülasyon ve nanokapsülasyon biyoaktif bileşikleri ve hücreleri kapsüllemek için en çok kullanılan iki teknolojidir (Shishir ve ark., 2018). Nanokapsüllemeye, 1 mikrondan daha küçük bir parçacık boyutu, mikrokapsüllemeye ise 1 ile 1000 mikron arasında bir parçacık boyutu meydana gelmektedir (Daneshniya ve ark., 2020). Fiziksel, kimyasal ve fiziksel-kimyasal olmak üzere başlıca enkapsülasyon yöntemleri Çizelge 2.1’de verilmiş ve bunlardan bazıları ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

Çizelge 2.1 Enkapsülasyon Yöntemleri (Zabot ve ark., 2022)

Fiziksel	Kimyasal	Fiziksel-Kimyasal
Püskürtmeli kurutma	İnklüzyon kompleksleşme	Koaservasyon
Ekstrüzyon	Emülsiyon polimerizasyonu	Sol-jel metodu
Dondurarak kurutma	Arayüz polimerizasyonu	Kompleks koaservasyon
Süperkritik akışkan	Arayüz çaprazbağlanma	Solvent evaporasyon
Pan-kaplama		Çok katmanlı adsorpsiyon
Santrifüjleme		
Elektrospinning		

2.1.1 Püskürtmeli Kurutma

Bu enkapsülasyon işleminde, genellikle sıvı bir ürün, katı bir matris içine yerleştirilmektedir. Hidrofilik bileşenler için doğrudan; lipofilik bileşenler için ise, öncelikle bir emülsifikasyon işlemi yapıldıktan sonra bu yöntemle enkapsülasyon yapılmaktadır (Assadpour ve Jafari, 2019). Bu amaçla çekirdek malzeme (yağ fazı), duvar veya yapı malzemesini içeren bir polimer çözeltisi içinde dağıtılarak emülsiyon oluşturulmakta ve oluşan emülsiyon atomize edilerek ince damlacıklar oluşturulmaktadır. Daha sonra bu damlacıklar, sıcak bir kurutma ortamında solventin buharlaşmasıyla mikrokapsüllere dönüşmektedir (de Vos ve ark., 2010). Kapsülasyonu gerçekleştirilecek madde bir katı ise, bu madde öncelikle bir matris malzemesi ve bir film oluşturucu içeren bir çözelti ortamında dağıtılmaktadır. Bu süspansiyon, daha sonra küçük damlacıklar halinde bir dehidrasyon ortamına püskürtülmektedir. Sonuç olarak, matris ve film oluşturucu, süspansiyon halindeki parçacıkların aglomerasyonu veya kaplanmasını sağlayarak, nanokompozit parçacıklar oluşmaktadır (Arpagaus ve ark., 2018). Bu yöntemin, yüksek sıcaklıklar kullanıldığından dolayı sıcaklığa duyarlı bileşikler için uygun olmadığı bildirilmektedir (Parthasarathi ve Anandharamakrishnan, 2016).

2.1.2 Ekstrüzyon

Ekstrüzyon teknolojisi bir malzemenin, sıcaklık, nem ve hız gibi çeşitli koşullar altında önceden belirlenmiş bir oranda, ayarlanabilir çapa ve şekle sahip bir delikten akmaya zorlandığı bir işlem olarak tanımlanabilmektedir. Bu yöntemde biyoaktif bileşikler, çeşitli duvar malzemeleriyle karıştırılarak ekstrüde edildiklerinde kapsülleme yapılabilmektedir. Ekstrüzyon işlemi, kısa süreli (≤ 1 dakika) olmakla birlikte uygulanan yüksek sıcaklıktan (80-150°C) dolayı, probiyotik hücreler gibi

çoğu termolabil biyoaktif bileşikler için olumsuz durumlar meydana getirmektedir (Bamidele ve Emmambux, 2020).

2.1.3 Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Liyofilizasyon olarak da bilinen dondurarak kurutma, süblimasyon olayına dayanan bir kurutma tekniğidir (Buljeta ve ark., 2022). Dondurarak kurutma ile enkapsülasyon kısaca, enkapsüle edilmek istenen madde ile bir yapı/duvar malzemesini içeren çözeltinin karıştırılması ve bu karışımın dondurularak buz kristallerinin oluşmasını sağlamak ve bu kristallerin de çok düşük basınç (Rezvankhah ve ark., 2019) ve ürünün makroskopik yapısını kaybedebileceği (çökme sıcaklığının 2-3°C altında) (Buljeta ve ark., 2022) düşük sıcaklıklara maruz bırakılarak, süblime edilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntem, vakum oluşturmak amacıyla bir pompa kullanılması ve kurutma işlemi uzun sürmesinden (24-48 saat) dolayı yüksek maliyetli bir kurutma teknolojisi olarak bilinmektedir (Rezvankhah ve ark., 2019). Bununla birlikte proste dondurma işlemi uygulandığından ve işlem, düşük sıcaklıklarda gerçekleştirildiğinden sıcaklığa hassas bileşikler için avantajlı bir tekniktir (Parthasarathi ve Anandharamakrishnan, 2016; Rezvankhah ve ark., 2019).

2.1.4 Süperkritik Akışkan Yöntemi

Bu akışkanlar, gaz ve sıvı arasında özellikler göstermektedirler. Bu yöntemle kapsülleme, mikronizasyon ve partikül oluşum süreçlerinde en yaygın kullanılan çözücü süperkritik karbondioksittir (Klettenhammer ve ark., 2020). Bu yöntemde kapsüllenecek bileşik ve yapı malzemesi (kaplama malzemesi), statik bir karıştırıcı kullanılarak, belli bir basınç ve sıcaklıkta süperkritik karbondioksit (scCO₂) ile muamele edilerek karıştırılmakta ve çözünmeleri sağlanmaktadır. Daha sonra bu karışım bir nozuldan ortam basıncında çalışan bir hazneye püskürtülmektedir. Nozuldaki basınç kaybıyla, CO₂ hızla buharlaşarak gaz fazına dönmekte ve çözünürlükteki azalma, kaplama malzemesinin ve aktif bileşenin çökmesine, dolayısıyla mikrokapsüllerin oluşmasına yol açmaktadır (Lévai ve ark., 2017; Soh ve Lee, 2019). Su ve organik çözücülerin kullanılmaması, işlemin düşük sıcaklıkta yapılması, lipit bazlı biyoaktifleri çözmede yüksek kapasite, yüksek stabilite, yüksek enkapsülasyon verimi ve çevresel faktörlerden etkilenmemesi gibi özelliklerinden

dolayı bu yöntem, çeşitli fonksiyonel bileşenler üretmede, üstün özellikte bir yeşil teknoloji olarak görülmektedir (Klettenhammer ve ark., 2020).

2.1.5 Santrifüjleme

Bu yöntemde öncelikle Na-aljinat gibi bir ön jel (sol) çözeltisi ve kapsüllenecek madde, bir ince cam kılcal boru içine yüklenmekte ve bu boru santrifüj kuvvetine tabi tutularak, yüklenen karışım borudan çıkışa zorlanmaktadır. Bu şekilde dışarı doğru itilen karışım, kılcal borunun ucundan mikro damlacıklar şeklinde çıkmaktadır. Daha sonra yapıyı güçlendirmek amacıyla oluşan bu damlacıklar, kalsiyum klorür (CaCl_2) çözeltisine atılmaktadır (Onoe ve ark., 2014).

2.1.6 Emülsiyon Polimerizasyonu

Bu yöntemde kapsülleme, bir reaktör içinde gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla reaktör su, kapsüllenecek madde ve yüzey aktif madde ile yüklenmekte ve hidrofilik bir başlatıcı ile bir monomer aşamalı olarak ilave edilerek, kademeli çalkalama işlemi ile bir polimerizasyon olayı gerçekleştirilmektedir. Bu şekilde elde edilen kapsüller, santrifüj işlemiyle ortamdan alınmaktadır (De Oliveira ve ark., 2005). Literatürde bu tekniğin genellikle nanoparçacıkların ve pigmentlerin enkapsülasyonunda kullanıldığı görülmektedir.

2.1.7 Sol-Jel Metodu

Sol-jel kapsülleme, tetrametil ortosilikat ($\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$)'ın asit hidrolizi ve ardından nötr pH'da kapsülleme şeklinde iki aşamalı olarak, alkoksit öncü maddeleri ile gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemde proteinlerin denatürasyonuna yol açabilecek kimyasal reaktifler kullanıldığından veya üretildiğinden (alkol, asit), su bazlı silika jellerinin kullanılmasıyla ilgili çalışmalar da yapılmaktadır (Coiffier ve ark., 2001). Bu teknik, çeşitli biyolojik moleküllerin (proteinler, enzimler, antikorlar) immobilizasyonunda uygulanmaktadır (Nguyen-Ngoc ve Tran-Minh, 2007).

2.1.8 Kompleks Koaservasyon

Sulu bir ortamda zıt yüklü iki polielektrolitin etkileşiminden oluşan bir kapsülleme tekniğidir. Bu yöntemde, kapsüllenecek olan biyoaktif bileşik etrafında protein veya karbonhidrat yapısında bir kimyasal kompleks oluşturulmaktadır. İyonik güç, sıcaklık, pH, polimer konsantrasyonu, biyopolimerlerin oranı, biyopolimerlerin

moleküler ağırlığı ve homojenleşme derecesi gibi faktörler, bu enkapsülasyon yönteminde önemli faktörlerdendir (Gheonea ve ark., 2021).

2.1.9 Solvent Evaporasyonu

Bu enkapsülasyon işlemi, biyoaktif bileşiği ve polimer çözeltisini içeren bir emülsiyonun oluşturulması ve organik çözücünün bu emülsiyon yapısından evapore edilmesi şeklinde, başlıca iki aşamadan oluşmaktadır (Bao ve ark., 2006). Bu teknikle kapsülasyon, kontrollü ilaç salınımında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Bao ve ark., 2006; Tiwari ve Verma, 2011).

2.2 Nanolif ve Elektrospinning Prosesi

Ulusal Bilim Vakfı'na göre nanolif, 100 nm veya daha düşük bir çapa sahip lif olarak tanımlanmakla birlikte, nanolif denilince genellikle 1 µm'den daha düşük çap uzunluklarına sahip lifler akla gelmektedir (Wang ve Hsiao, 2016). Nanolif, biyobozunur (Kohsari ve ark., 2016), hafif, küçük çaplı, geniş yüzey alanına ve gözenekli bir yapıya sahip, oldukça küçük boyutlu bir materyaldir. Bundan dolayı enerji üretimi ve depolama, sağlık, su ve çevresel arıtma, biyomedikal mühendisliği, biyoteknoloji, bilgi teknolojisi ve gıda teknolojisi gibi birçok uygulama için yararlı yeni bir materyal olarak görülmektedir (Wang ve Hsiao, 2016; Babitha ve ark., 2017; Kenry ve Lim, 2017). Gıda teknolojisi alanındaki başlıca uygulamaları olarak enzim immobilizasyonu, filtrasyon, ambalaj film özelliklerinin geliştirilmesi ve enkapsülasyon gösterilmektedir (Fathi ve ark., 2014; Okutan ve ark., 2014). Nanoliflerin her bir özelliği farklı uygulamalar için önem arz etmektedir. Örneğin lif çapı, elektrospun vasküler greftler ve sıvı filtrasyonu için; fotonik uygulamalar, kontrollü salınım ve sis toplama uygulamaları için boncuklu lifler; gözenekli lifler, yağ, fenol ve iyot gibi absorpsiyon uygulamalarında; Oryante edilmiş lifler, sıvı filtrasyonu ve tendon ve bağ dokusu mühendisliği için önemli görülmektedir (Mailley ve ark., 2021).

Nanolifler faz ayırımı, kimyasal buhar biriktirme, çekme metodu, sol-jel yöntemi, kendiliğinden tutunma, termal oksidasyon, şablon sentezi ve elektrospinning (elektrodöndürme) gibi çeşitli proseslerle üretilmektedir. Bunlar arasında elektrospinning yönteminin uygun maliyetli, etkili, basit ve çok yönlü bir proses olduğu bildirilmektedir (Subbiah ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2005; Zhao ve ark., 2011). Ayrıca bu yöntemde çok çeşitli yapı malzemesinin kullanılabilirdiği ve

çok yüksek yüzey-hacim oranına, ayarlanabilir gözeneklilik ve geniş bir boyut ve şekil yelpazesine sahip liflerin üretilebildiği bildirilmiştir (Eatemadi ve ark., 2014).

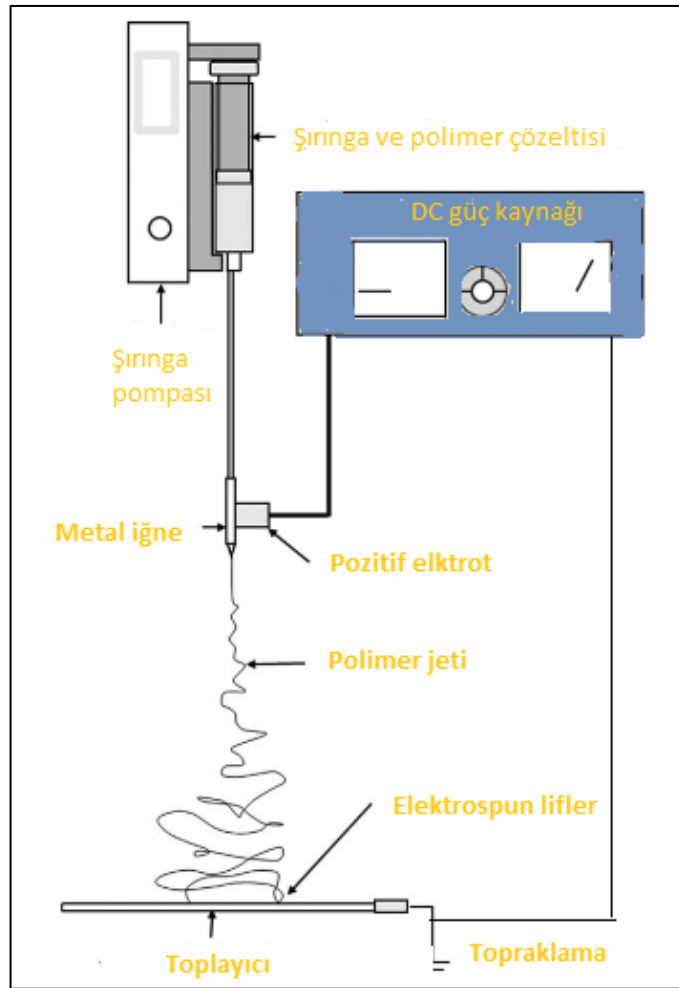
Elektrospinning sistemi, Şekil 2.1’de görüldüğü gibi ayarlanabilir yüksek voltajlı bir güç kaynağı, otomatik şırınga pompası ve toplayıcı metal plaka (kollektör) olmak üzere üç ana ekipmandan meydana gelmektedir (Khenoussi ve ark., 2011). Elektrospinning sisteminde yukarıda da anlatıldığı gibi, polimer çözeltilisine yüksek voltaj (kV) uygulaması ile önce Taylor konisi oluşmakta ve bundan da elektrik yüklü bir polimer çözeltisi jeti çıkmakta ve bu jet çözücünün buharlaşmasıyla uzayarak, mikro/nano-liflere dönüşmektedir (De Vrieze ve ark., 2009; Croisier ve ark., 2015). Bu proste polimer jeti, belli bir süre düz uzadıktan sonra bükülerek, spiral bir şekilde ilerlemektedir (De Vrieze ve ark., 2009). Şekil 2.2’de elektrospinning prosesi şematik olarak görülmektedir. Bu teknikte lif üretmek amacıyla çeşitli sentetik ve doğal kaynaklardan elde edilen polimerik materyaller, çeşitli solvent sistemleriyle elektro-döndürülebilmektedir (Neo ve ark., 2018). Elektrospinning ile çok farklı morfolojik özelliklerde materyaller üretilebilmektedir (Moheman ve ark., 2016). Elektro-döndürme liflerin kesitleri, genellikle dairesel ve pürüzsüzdür. Bununla birlikte değişik elektrospinning koşulları veya uygulamalarıyla çekirdek-kabuk, içi boş, gözenekli ve buruşuk gibi farklı yapılarda lifler üretmek mümkündür (Neo ve ark., 2018). Ayrıca bu teknikle elde edilen nanoliflerin yüksek gözenekliliğe sahip olduğu ve daha geniş bir yüzey-hacim oranı sağladıkları bildirilmiştir (Feng ve ark., 2013). Enkapsülasyon uygulamaları için yararlı olan bu gözeneklerin, lif yüzey alanını arttırmakla birlikte enzimler ve diğer nanopartiküller için taşıma işlevi görebileceği bildirilmektedir (Casper ve ark., 2004). Nanoliflerin gıdalara ilavesinin, yararlı mikroorganizmalar için daha fazla tutunma alanı sağlayacağı ve böylelikle canlılık sürelerinin daha da artacağı düşünülmektedir.

2.2.1 Elektrospinning Tekniğiyle Nanolif Üretiminde Önemli Parametreler

Elektrospinning tekniğiyle ideal nanoliflerin üretilmesi, çözelti ve çözücü, proses ve çevresel parametrelere bağlıdır (Fathi ve ark., 2014; Fathi, 2015; Zare ve ark., 2021).



Şekil 2.1 Elektrosponing Sistemi



Şekil 2.2 Elektrosponing Prosesi (Vega-Lugo ve Lim, 2012)

2.2.1.1 Çözelti ve Çözücü Parametreleri

Bu parametreler, polimer konsantrasyonu, viskozite, yüzey gerilimi, çözelti elektrik iletkenliği ve çözücü uçuculuğudur (Fathi ve ark., 2014; Fathi, 2015). Liflerin morfoloji ve boyut özellikleri, çözelti viskozitesi ile yakından ilişkili iki özelliğidir. Yüksek çözelti viskozitesi, kararlı lif jetleri üreten baskın bir dolaşma (döndürme) etkisi sağlamaktadır (Lee ve ark., 2010). Moleküler ağırlık, dolaşma oluşumu sırasında, polimerik çözeltinin viskozitesini etkilemektedir (Bhardwaj ve Kundu, 2010). Düşük konsantrasyonlarda çözelti viskozitesi düşük iken, yüzey gerilimi nispeten yüksektir. Düşük viskozite ve konsantrasyon altında boncuklu yapılar, yüzey geriliminin baskılaması nedeniyle, tek tip liflerden daha fazla oluşmaktadır (Ki ve ark., 2005). Çünkü lif oluşabilmesi için polimer jetinin oluşması gerekmektedir. Polimer jeti ise, elektrostatik kuvvetlerin, polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aştığı anda meydana gelmektedir. Çok düşük konsantrasyonlarda, ortamın nem oranına da bağlı olarak, lif oluşumu gerçekleşmeyebilir. Çünkü daha düşük konsantrasyonlarda, elektrospinning sırasında daha fazla çözücünün buharlaştırılması gerektiğinden, lif oluşum süreci daha fazla zaman gerektirmektedir (De Vrieze ve ark., 2009). Bununla birlikte, çözelti viskozitesi ve konsantrasyonu yükseldikçe, çözeltinin katılaşmasına diğer bir değişle akışkanlığının azalmasına bağlı olarak, nozullarda veya şırınga iğnesinde tıkanmalar meydana gelebilmekte (Zare ve ark., 2021) ve lif oluşumu durabilmektedir (Beachley ve Wen, 2009). Ayrıca çözelti viskozitesi ve konsantrasyonu ile üretilen liflerin çapları doğru orantılıdır. Dolayısıyla ince lifler üretebilmek için çözelti viskozitesinin ve konsantrasyonun düşük olması gerekmektedir (Beachley ve Wen, 2009; Zare ve ark., 2021). Çözelti konsantrasyonu ile liflerin kollektör üzerine düştüğü alanın uzunluğu (çapı) arasında da doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir (Beachley ve Wen, 2009).

Çözeltinin elektrik iletkenliği, esas olarak polimer tipi, çözücü ve iyonlaştırıcı tuzların varlığından etkilenmektedir (Bhardwaj ve Kundu, 2010). İğne ucunda sarkan damlacıklarda itme yüklerinin artması ve buna bağlı olarak polimer jetinin oluşması için yüksek iletkenlik gerekmektedir (Vega-Lugo ve Lim, 2012). Tipik olarak elektrik iletkenliğinin artması, nanolif çaplarında önemli ölçüde azalmaya ve elektrik iletkenliğinin azalması ise, lif oluşumunu önlemekte ve boncuklu yapı kusurlarının oluşmasına sebep olmaktadır (Bhardwaj ve Kundu, 2010). Bir çözeltinin viskozitesi,

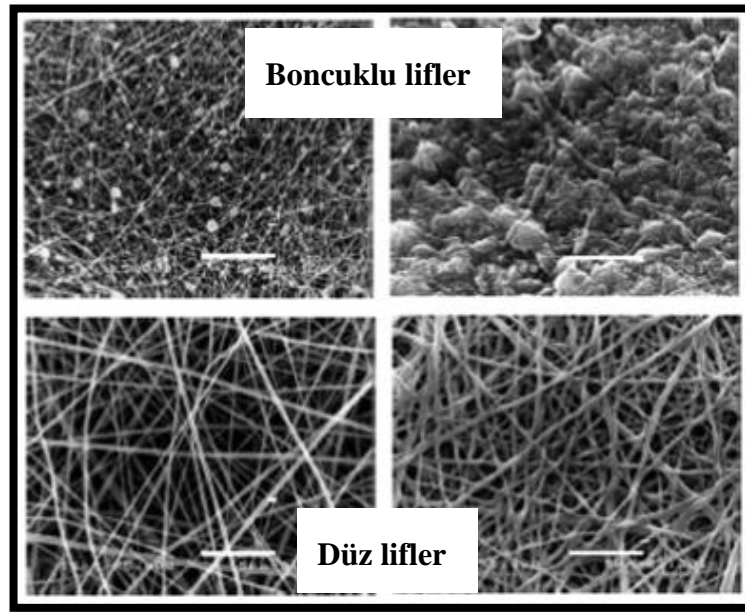
iyonların hareketliliğini belirlemekte ve böylece iletkenliği doğrudan etkilemektedir. Düşük viskoziteli çözeltilerde, yüksek viskoziteli çözeltilere kıyasla daha yüksek bir iletkenliğin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Fung ve ark., 2011). İletkenliği etkileyen parametrelerden biri de çözeltinin pH değeridir. Alkali çözeltilerden üretilen liflerin, iletkenliğin daha yüksek olmasına bağlı olarak, asidik polimer çözeltilisinden üretilen liflere kıyasla daha küçük çaplara sahip oldukları bildirilmektedir (Vega-Lugo ve Lim, 2012).

Lif oluşumunda, polimer çözeltisi hazırlamak için kullanılan, çözücünün uçuculuğu da oldukça önemlidir. Elektrospinning işleminde çözelti, Taylor konisi, düz jet ve bükülme/döndürülme bölgesi olmak üzere üç bölgeden geçmekte ve çözücü buharlaşması, iğnenin ucunda ve jet uçuşu sırasında toplayıcıya ulaşana kadar gerçekleşmektedir. Çözücünün buharlaşması, yüzey alanı artışı için, en fazla jetin bükülme/çirpılma bölgesinde (konveksiyon mekanizmasıyla) meydana gelmekte ve birkaç on milisaniye sürede yüksek oranda buharlaşma gerçekleşmektedir (Mailley ve ark., 2021). Uçuculuk ile liflerin gözenek yapısı ve yüzey alanı arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Uçuculuk azaldıkça, çözücünün çözeltilerden uzaklaştırılmasının zorlaşacağı bildirilmektedir (Zare ve ark., 2021). Yapılan bir çalışmada çözücü olarak su kullanılmasının, jelatinin elektrospinlenebilmesi için uygun olmadığı, çünkü oluşan elektrospun (elektro-döndürme) liflerin katılaşabilmesi için çözeltinin çok hızlı buharlaşması gerektiği bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmada, jelatin çözeltisi hazırlamak için organik ve çok uçucu bir çözücü olarak bilinen formik asit kullanılmıştır (Ki ve ark., 2005).

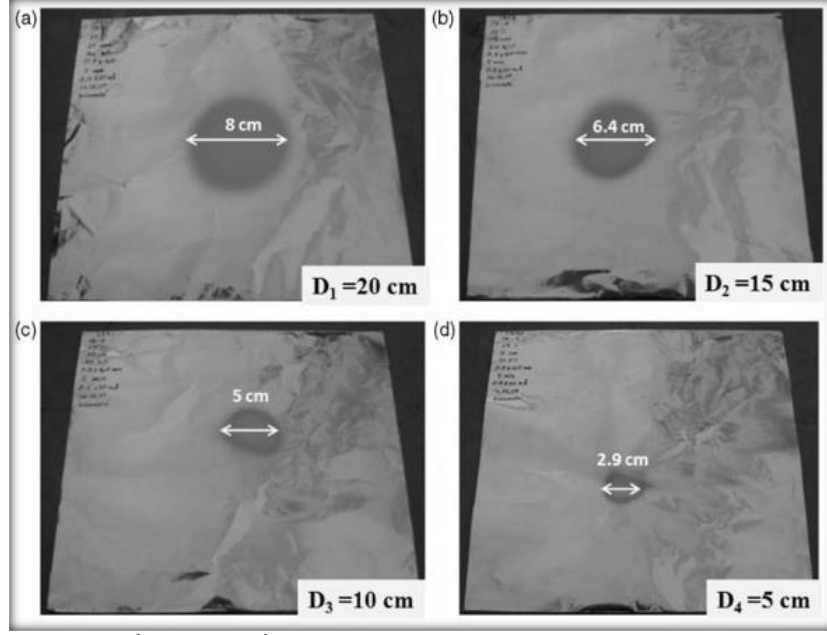
2.2.1.2 Proses Parametreleri

Bu parametreler, polimer çözeltisi akış hızı, voltaj, kollektör (toplayıcı plaka) ve iğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe olarak tanımlanabilmektedir (Fathi ve ark., 2014; Fathi, 2015, Zare ve ark., 2021). Akış hızı arttıkça, üretilen liflerin çapları da artmakta ve Taylor konisinin oluşum stabilitesi bozulmaktadır (Zare ve ark., 2021). Voltaj yükseldikçe, oluşan liflerin çapları azalmakta (Beachley ve Wen, 2009; Zare ve ark., 2021) ve homojenliği (tekdüzelik) artmaktadır (Beachley ve Wen, 2009). Bununla birlikte voltaj düştükçe, lif oluşumu azalarak, durmaktadır. Kollektör tipi, liflerin 3D yapısını ve hizalanmasını etkilemektedir (Zare ve ark., 2021). Toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafe, genel olarak 10-30 cm seçilmekle birlikte

(Mailley ve ark., 2021) bu mesafe arttıkça, düzgün olmayan ve boncuklu liflerin oluşumu artmaktadır (Zare ve ark., 2021). Aşağıda düz ve boncuklu liflerle ilgili bir çalışmadan alınan SEM görüntüleri verilmiştir (Şekil 2.3). İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafenin azalmasıyla da nanolif çapının arttığı bildirilmektedir (Hekmati ve ark., 2013). Ayrıca toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafe azaldıkça lif oluşumu azalmakta ve durmaktadır (Zare ve ark., 2021). Bu mesafenin lif çapına olan etkisinin, daha çok çözeltinin buharlaşmasıyla ilişkili olduğu ve çözeltinin buharlaşabilmesi için yeterli bir süre ve dolayısıyla mesafenin gerektiği bildirilmektedir. Bir çalışmada, nanoliflerin kollektör üzerinde dairesel olarak toplandığı bölgenin ortalama çapının, bu mesafenin azalmasıyla azaldığı (Şekil 2.4) ve şırınga iğnesinin uzunluğundaki artışın, ortalama nanolif çapını önemli ölçüde artırdığı da tespit edilmiştir (Hekmati ve ark., 2013).



Şekil 2.3 Boncuklu ve Düz Liflerin SEM Görüntüleri (Somvipart ve ark., 2013)

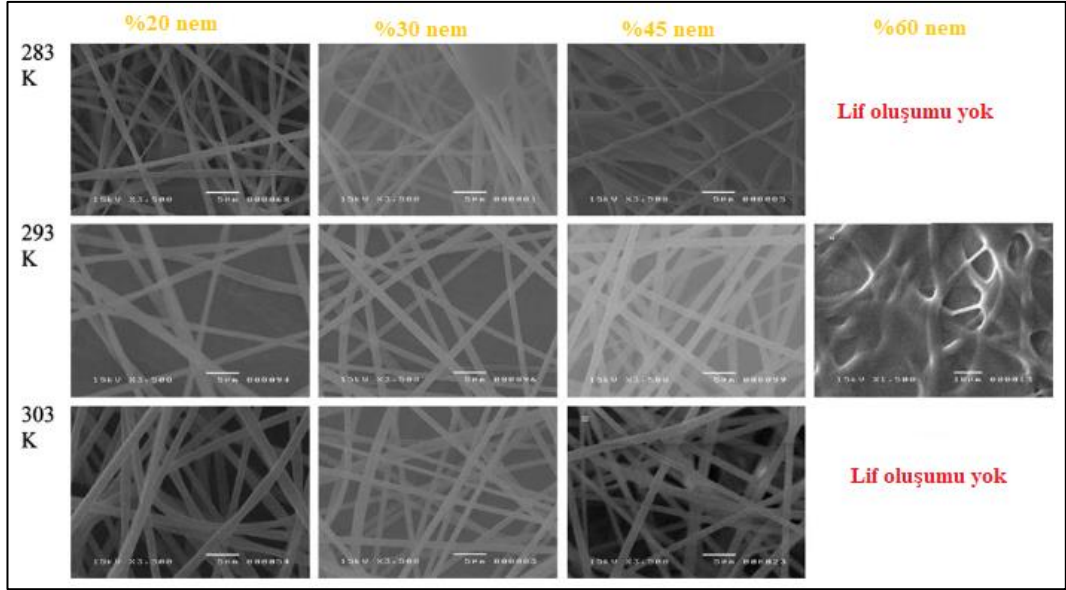


Şekil 2.4 İğne Ucu İle Kollektör Arasındaki Mesafeye (5, 10, 15 ve 20 cm) Bağlı Olarak Oluşan Lif Ağlarının Ortalama Çapları (Hekmati ve ark., 2013)

2.2.1.3 Çevresel Parametreler

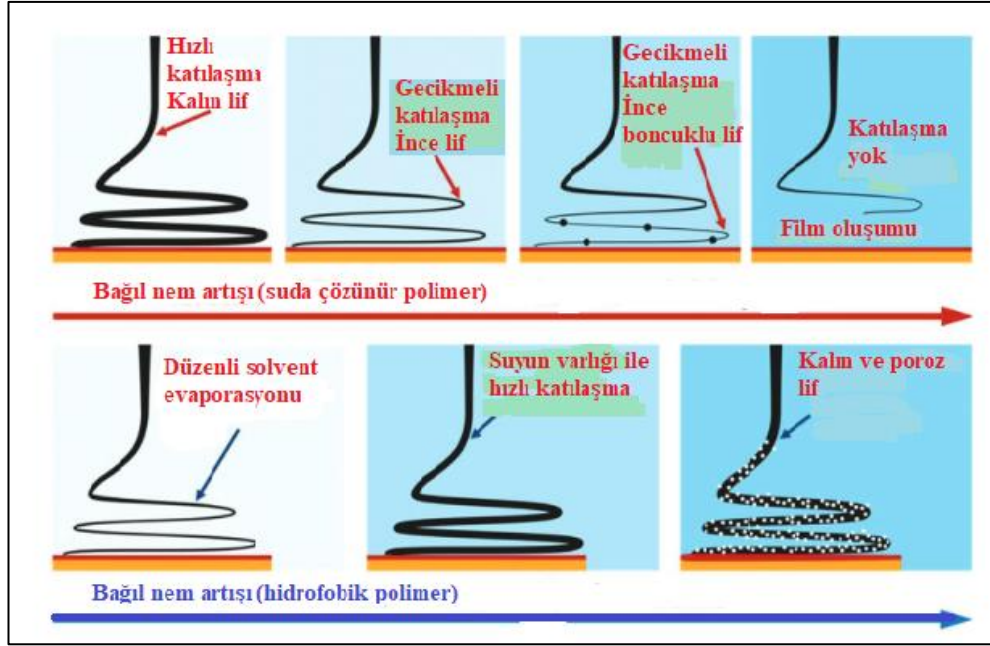
Çevresel parametrelerin başlıcaları ortamın nem düzeyi ve sıcaklıktır (De Vrieze ve ark., 2009; Fathi ve ark., 2014; Fathi, 2015; Zare ve ark., 2021). Lif üretilen ortamın nem düzeyi (bağıl nem), çözücünün buharlaşma oranını etkilemektedir. Nem düzeyi arttıkça, oluşan liflerin kuruma düzeyi azalmakta ve dolayısıyla liflerde bulunan nem oranı yükselmektedir. Bu durum istenen bir durum değildir (Zare ve ark., 2021). Ayrıca, çok yüksek nem düzeylerinde, kollektör (toplayıcı plaka) üzerinde lif yerine, kaynaşmış liflerin oluşturduğu şeffaf bir film oluşmaktadır. Çözeltinin çeşidine bağlı olmakla birlikte yapılan bir çalışmada Şekil 2.5'te gösterildiği gibi belli bir nem düzeyi üzerinde nanoliflerin oluşmadığı veya oluşan liflerin istenen özelliklerde olmadıkları tespit edilmiştir. Polimerin kimyasal yapısına bağlı olarak, nem oranı arttıkça liflerin ortalama çapları artmakta veya azalabilmektedir (De Vrieze ve ark., 2009). Hidrofobik polimer durumunda, bağıl nem oranı arttıkça lif çapı da artmaktadır (Kim ve ark., 2005). Su bazlı bir polimer çözeltisi olduğunda ise, bağıl nem arttıkça liflerin çapları azalmaktadır (Pelipenko ve ark., 2013).

Elektrospinning prosesinde bağıl nemin etkisi, daha ayrıntılı olarak, iki şekilde açıklanabilmektedir:



Şekil 2.5 Farklı Sıcaklık ve Nem Oranlarında Oluşan Nanoliflerin SEM Görüntüleri (De Vrieze ve ark., 2009)

Biri, havadaki yüksek nem oranı, moleküler polarizasyon nedeniyle, elektrospun jeti üzerindeki yük miktarının azalmasına ve bu durum ise, jetin daha az çırpma kuvvetine maruz kalması ve daha az uzamasına neden olmaktadır. İkinci bir durum, nemin, polimer-çözücü sistemlerine bağlı olarak lifin katılma oranını farklı şekillerde etkileyerek, lifin nihai çapını etkilemesidir (Şekil 2.6). Örneğin, hidrofobik bir polimerden oluşan bir sistem için, jet içindeki suyun absorpsiyonu, daha kalın lif çapı ile sonuçlanan çökme nedeniyle, liflerde hızlı katılaşmaya ve yüksek nemde lif üzerinde gözlemlenebilen boncuklu morfolojik yapının baskılanmasını sağlamaktadır (Mailley ve ark., 2021). Suda çözünen bir polimer veya suyla plastikleştirilebilen bir polimer durumunda ise, jet içindeki su absorpsiyonu, daha yavaş buharlaşma veya polimerin plastikleşmesi nedeniyle, katılaşmanın gecikmesine neden olmaktadır (Pelipenko ve ark., 2013). Elektrospinning prosesinin gerçekleştiği atmosferin sıcaklığı ise, bağıl nemi etkilemekle birlikte (Mailley ve ark., 2021) çözücünün buharlaşma oranını ve çözeltinin viskozitesini de etkilemektedir. Sıcaklık arttıkça, viskozite ve yüzey gerilimi azalmakta ve çözücünün buharlaşma oranı artmaktadır (De Vrieze ve ark., 2009; Zare ve ark., 2021). Dolayısıyla viskozitedeki azalma nedeniyle daha yüksek sıcaklıklarda daha ince nanoliflerin oluştuğu; daha düşük sıcaklıklarda ise, çözücü buharlaşması daha yavaş olduğundan, polimer jetinin havada kalma süresi içinde lif oluşum sürecinin tamamlanamadığı bildirilmektedir (De Vrieze ve ark., 2009).



Şekil 2.6 Bağıl Nemin Lif Morfolojisi Üzerindeki Etkisinin Şematik Gösterimi

Yapılan çalışmalar liflerin ortalama çaplarının, bir hidrofilik veya hidrofobik polimerin kullanılıp/kullanılmadığına bağlı olarak, liflerin dış şekli ve iç morfolojisinden etkilenebileceğini de göstermiştir (Mailley ve ark., 2021).

Yukarıda ifade edilen faktörler doğrultusunda bu çalışmada, ideal kalite ve standartlarda nanolifler üretebilmek için çözeltinin viskozite, konsantrasyon, elektrik iletkenliği ve çözücü uçuculuğu gibi özellikleri ve diğer parametreler uygun şekilde ayarlanmıştır. Literatürde bu çalışmada kullanılan materyallerden (portakal ve kivi posaları) nanolif üretimi ile ilgili bir çalışma bulunmadığından bu çalışma, özgün olmakla birlikte, bu materyallerden nanolif üretimi açısından bir standardizasyon çalışması da olmuştur.

2.2.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimerler

Elektrospinning ile poli (-vinil alkol), poli (-etilen oksit) ve poli (-laktik asit) gibi sentetik polimerlerden nanolif üretilebildiği gibi elektrospinning, serum proteini, pullulan (López-Rubio ve ark., 2012), selüloz, kolajen, jelatin, modifiye kitin, kitosan ve deoksiribonükleik asit de (DNA) dâhil olmak üzere doğal biyomakromoleküllerden nanolifler üretmek için de kullanılmaktadır (Feng ve ark., 2013). Literatürde sentetik polimerlerden doğrudan nanolif üretilebildiği görülürken, birçok doğal polimerden bunun pek mümkün olmadığı görülmektedir. Sentetik

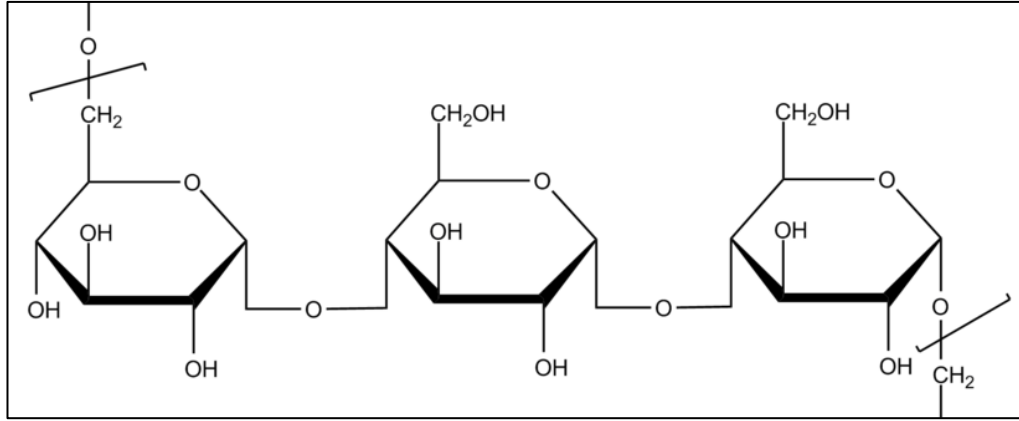
polimerlerden toksik olmayan, biyobozunur ve biyolojik olarak uyumlu poli (-vinil alkol) (PVA) ve poli (-etilen oksit) gibi maddeler, viskozite ve diğer bazı özellikleri uygun olmadığından dolayı, elektrospinlenemeyen biyopolimerlerin nanolif üretiminde yardımcı madde olarak kullanılmaktadırlar. Yapılan bir çalışmada tere tohumu zamburakından (CSM) nanolif üretiminin, yüksek viskozite ve üç boyutlu bir ağda elektriksel alanla maruz kalan polimerik zincirlerin hareketini engelleyen güçlü hidrojen bağlarının oluşumu nedeniyle başarılı olamadığı bildirilmiştir. Ancak farklı hacim oranlarında poli (-vinil alkol) (PVA)'ün yardımcı madde olarak kullanımıyla nanolif üretilebildiği görülmüştür. Kitosan, aljinat ve pektin gibi bazı karbonhidrat bazlı polimerlerin de bu sebeplerden dolayı, yardımcı bir madde olmadan, elektrospinlenemediği bildirilmiştir (Fahami ve Fathi, 2018). Ancak sentetik yerine doğal maddelerin yardımcı madde olarak kullanılabilmesinin, gıda güvenliği ve tüketici memnuniyeti açısından oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kapsülasyon malzemesi olarak, bakterilerin biyoaktivitelerini etkilemesi beklenmeyen ve canlılık düzeyi tespiti çalışmaları açısından, bakteriyel hücrelerin geri kazanımlarını kolaylaştıran malzemelerin kullanılması olumlu görülmektedir (López-Rubio ve ark., 2009). Bu çalışmada da yardımcı madde olarak, doğal bir polisakkarit polimer olan pullulanın (α -1,4-; α -1,6-glukan) kullanımı amaçlanmıştır.

Dolayısıyla bu çalışmada, elektrospinning tekniği kullanılarak, gıda sanayii yan ürün veya atıklarından olmakla birlikte diyet lif kaynaklarından olan portakal ve kivi posalarından elde edilen, önemli miktarlarda çözünür diyet liflerden (ÇDL) oluşan, suda çözünür fraksiyonların pullulan gibi bir doğal yardımcı madde ile nanoliflere dönüştürülebilme potansiyelleri araştırılmıştır. Ayrıca, gıda sınıfından olan bu doğal materyaller ile probiyotiklerin nanoenkapsülasyon olanaklarının araştırılması ve elde edilen nanoenkapsüle probiyotiklerin yoğurt gibi düşük pH'lı yani yüksek asitli model bir gıdada ve gastrointestinal koşullarda canlılık sürelerinin araştırılması gerçekleştirilmiştir. Literatürde, portakal ve kivi posalarının sulu ekstraktlarından nanolif üretildiği herhangi bir çalışma görülmemektedir. Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretilebilmesi için, polimer çözeltisinin spinlenebilmesi gerekmektedir. Dolayısıyla çalışmada, öncelikle polimer çözeltilerinde yer alan, önemli miktarları ÇDL'den oluşan, suda çözünür fraksiyonların ve pullulanın, toplam konsantrasyon ve diğer çözelti parametreleri

açısından uygun oranları ön çalışmalarla belirlenmiştir. Daha sonra ise, uygulanan voltaj, akış hızı ve şırınga ucuyla toplayıcı arasındaki mesafe gibi parametrelerin uygun bir şekilde ayarlanması gerçekleştirilmiştir (Fathi ve ark., 2017).

2.2.2.1 Pullulan

Pullulan, maya benzeri bir mikroorganizma olan *Aureobasidium pullulans* tarafından şeker ve nişastadan aerobik olarak üretilen inert, lineer bir polisakkarittir. Pullulan molekülü, birbirlerine 1,4-glikozidik bağı ile bağlı üç glikoz molekülünden oluşan, maltotrioz birimlerinin birbirlerine 1,6-glikozidik ara bağıyla bağlanmasıyla oluşan bir polimer yapısındadır (Şekil 2.7). Şu ana kadar tespit edilen immünojenik, kanserojen ve mutajenik etkileri olmadığı için "genel olarak güvenli kabul edilen" (GRAS) bir yardımcı maddedir. Kristalimsi, higroskopik olmayan, beyazımsı bir renge sahip (Mishra ve ark., 2022), tatsız ve kokusuz olan pullulan granülleri, hem sıcak hem de soğuk suda çözünebilmektedir (Singh ve Kaur, 2019). Düşük kalorili olduğundan dolayı gıdalarda nişasta ikame maddesi olarak kullanılabilen pullulanın, gıda endüstri açısından oldukça önemli olduğu bildirilmektedir. Yoğunlaştırıcı özelliğinden dolayı soslarda, çorbalarda ve içeceklerde kıvam artırıcı; gıda türü macunlarda ve emülsiyonlarda stabilizör; dondurma ve dondurulmuş gıdalarda koruyucu (Mishra ve ark., 2022) ve süt bazlı tatlılarda köpürtücü bir bileşen olarak kullanılmaktadır (Mishra ve Varjani 2019). Ayrıca son zamanlarda gıda endüstrisinde kullanılmak üzere pullulan bazlı film (Priyadarshi ve ark., 2021; Cao ve ark., 2022; Gasti ve ark., 2022; Gniewosz ve ark., 2022) ve nano-liflerin (Duan ve ark., 2021; Ma ve ark., 2021; Min ve ark., 2021; Amjadi ve ark., 2022; Liang ve Gao, 2023) üretilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Pullulan, elektrodöndürülebilen bir polimer olduğundan, nanolif üretiminde tek başına kullanılabilirdiği gibi elektrodöndürülemeyen bileşiklerden naolif üretiminde yardımcı madde olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu doğrultuda literatürde pullulan yardımcı maddesi ile kitosan (Qin ve ark., 2019), jelatin (Wang ve ark., 2019), gam arabik (Ma ve ark., 2021), aljinat (Xiao ve Lim, 2018) ve kazein (Tomasula ve ark., 2016) gibi bileşiklerden nanoliflerin üretildiği görülmektedir. Pullulanın prebiyotik ve diyet lif özelliğine sahip olduğu da bildirilmektedir (Mishra ve ark., 2022).



Şekil 2.7 Pullulanın Kimyasal Yapısı (Mishra ve ark., 2022)

2.3 Meyve Endüstriyel Atıkları ve Bileşimi

Gıda ve Tarım Organizasyonu'na (FAO) göre, dünyada her yıl üretilen toplam gıdanın, %30-40'ına eşdeğer olan yaklaşık 1,3 milyar tonu atık olarak israf edilmektedir. Bu atığın %40-50'si meyve, sebze ve kök bitkilerinden oluşmaktadır (Sirohi ve ark., 2021). Gıda sanayinde meydana gelen bu büyük kayıp ve israfın en önemli nedenlerinin, giderek artan yüksek üretim ve büyümenin yanı sıra, uygun işleme yöntemlerinin olmaması ve altyapının yetersiz olması olduğu bildirilmektedir. Bu nedenlerle gıda ürünleri ile birlikte bunların bileşenleri, yan ürünleri ve kalıntılarında büyük kayıplar meydana gelmektedir (Sagar ve ark., 2018). Meyvelerin kurutulması, konserve edilmesi, dondurulması, tozlarının üretilmesi ve meyve sularına işlenmesi gibi proseslerde, meyve ağırlığının yaklaşık %20-50'sini oluşturduğu tahmin edilen önemli miktarlarda katı atık meydana gelmektedir (Manhongo ve ark., 2022). Bu atıklar, nem ve mikrobiyal yük bakımından zengin olduklarından doğrudan çevre kirliliğine yol açmaktadırlar (Banerjee ve ark., 2017). Meyve ve sebzelerin kabuk, yaprak, sap, tohum gibi kısımları başlıca atık olan kısımlarıdır (Solangi ve ark., 2021). Bu atıklar mineraller (Banerjee ve ark., 2017), glikoz, fruktoz ve sükroz gibi karbonhidratlar (Choi ve ark., 2015), vitaminler, enzimler ve fitokimyasallar (karotenoidler, flavonoidler, polifenoller, tanenler, lignin vb.), çözüner/çözünmez diyet lifler, uçucu yağlar gibi biyoaktif bileşikleri içermektedirler (Sirohi ve ark., 2021). Özellikle pektin gibi zengin bir biyoaktif karbonhidrat kaynağı olmasının yanı sıra, meyve endüstri atıkları, kabuklarından selülozun, posalarından hemiselülozun geri kazanılması için de önemli bir kaynak olabilmektedir (Banerjee ve ark., 2017).

Meyvelerin endüstriyel olarak işlenmeleri sırasında, yukarıda belirtilen kısımlarının oluşturduğu tonlarca atık meydana gelmekte ve bunların endüstride kullanımı yetersiz görülmektedir. Bu nedenle, hem sıfır atık stratejisini desteklemek hem de yaygın olarak bulunan ve düşük maliyetli olan bu biyoaktif ve diğer önemli bileşik kaynakları için katma değerli ürünler üretecek şekilde, yeni kullanım alanlarının meydana getirilmesinin oldukça önemli olacağı düşünülmektedir (Macagnan ve ark., 2015; Sirohi ve ark., 2021).

2.3.1 Diyet Lif

Meyve-sebze atıklarının önemli bir kısmını diyet lifler oluşturmaktadır (Sirohi ve ark., 2021). Diyet lif (DL), bitkilerin ince bağırsakta hidrolize olamayan yenilebilir kısımları olarak bilinmektedir. Diyet lif, koroner kalp hastalıkları, felç, hipertansiyon, diyabet, obezite ve bazı gastrointestinal hastalıkların riskini azaltma gibi önemli faydaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. (Elleuch ve ark., 2011; Huang ve ark., 2013). Su ile karıştırıldığında bir dispersiyon oluşturup oluşturmamalarına göre diyet lif (DL), çözünmez (ÇZDL) ve çözünür diyet lif (ÇDL) olarak sınıflandırılmaktadır (Jiménez-Escrig ve Sánchez-Muniz, 2000). Çözünür diyet lifler pektinler, müsilaj, zayıf bağlı hemiselülozlar, beta-glukanlar ve inülin dahil olmak üzere geniş bir dizi sindirilemeyen oligosakkaritleri; çözünmez diyet lifler ise selüloz, lignin ve kuvvetli bağlı selülozları kapsamaktadır (Rodríguez ve ark., 2006; Alvarez ve Peña-Valdivia, 2009; Capuano, 2017). ÇZDL ile kıyaslandığında ÇDL, güçlü antioksidan aktivite, daha yüksek jelleşme kapasitesi, daha fazla fermente edilebilir ve viskozite artırıcı gibi daha iyi fizyolojik ve biyoaktif özelliklere sahiptir. (Esposito ve ark., 2005; Galisteo ve ark., 2008; Mateos-Aparicio ve ark., 2010; Feng ve ark., 2014). Bu özelliklerinden dolayı ÇDL, kıvam arttırıcı, emülgatör, stabilizatör ve yağ ikame maddesi olarak gıda ürünlerinde kullanılabilir (Elleuch ve ark., 2011; Cui ve ark., 2013; Sozer ve ark., 2014). Ayrıca çözünür diyet liflerin, hipokolestolemik, immün-modülatör ve antikanserojenik gibi yararlı fonksiyonel özelliklerinin olduğu bildirilmektedir (Anderson ve ark., 2009; Lattimer ve Haub, 2010; Daou ve Zhang, 2011). Diyet lif prebiyotik özelliği nedeniyle bağırsaktaki bakterilerin büyümesini ve/veya aktivitesini ve bağırsak florasının düzenlenmesini teşvik etmektedir (Cruz ve ark., 2013b). Çünkü diyet lif, midede stabil ve ince bağırsakta sindirilmeye ve emilmeye

dirençli iken, bağırsakta anaerobik bakterilerin salgıladıkları hücre dışı enzimlerle parçalanarak kısmen veya tamamen fermente edilebilmektedir (AACC, 2001; Shah ve ark., 2011). Son zamanlarda diyet lif tüketimini artırmak, gıdaların bazı özelliklerini geliştirmek ve probiyotikli gıdalarda probiyotik hücrelerin gelişimini teşvik etmek ve canlılık sürelerini uzatmak amacıyla gıdalara diyet lif ilaveleri yapılmaktadır. Diyet lif ilavesi, hem fizyolojik hem de teknolojik fonksiyonel özellikler açısından önem arz etmektedir (Izydorczyk ve ark., 2008). Çeşitli diyet lif kaynaklarının başta probiyotikli yoğurt olmak üzere çeşitli gıdalara ilavesi yapılarak, probiyotik hücre sayılarının, kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde tutulabildiği yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir (Sah ve ark., 2016; Akalın ve ark., 2018; Karaca ve ark., 2019; Fan ve ark., 2023). Tahıllardan elde edilen diyet liflerin gıdalara ilavesi, meyve diyet liflerinin ilavesinden daha yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Ancak meyvelerin, daha yüksek toplam diyet lif (TDL) ve çözünür diyet lif (ÇDL) içeriğine sahip oldukları bildirilmektedir (Larrauri, 1999).

Çözünür diyet liflerin en önemli bileşiklerinden olan pektin (Martin-Cabrejas ve ark., 1995; Macagnan ve ark., 2015), gıda endüstrisinde jel oluşturmak amacıyla kullanılan önemli bir polisakkarit bileşiktir. Jel oluşturma özelliğinden dolayı yenilebilir film ve kaplama maddesi olarak kullanımı da yaygın olarak araştırılmaktadır. Bunların yanı sıra, probiyotik hücrelerin çeşitli koşullarda muhafazası amacıyla probiyotik yüklü pektin bazlı filmlerin üretimi (Dafe ve ark., 2017; Khodaei ve ark., 2020; Namratha ve ark., 2020); immobilizasyon yönteminde pektin bazlı mikropartiküllerin kullanımı (Gebara ve ark., 2013; Eckert ve ark., 2018; Carine Raddatz ve ark., 2020) ve pektin içeren nanoliflerin üretimi (Xu ve ark., 2022b) de son zamanlarda çalışılmaktadır. Ayrıca, pektinin çeşitli probiyotikli gıdalara ilavesiyle hem gıdalarda (Santos ve ark., 2017; Karaman ve Ozcan, 2021) hem de in vitro olarak gastrointestinal koşullarda (Santos ve ark., 2017) probiyotik hücre sayısının kabul edilebilir seviyelerde tutulabildiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Bu çalışmada, bazı meyve (portakal ve kivi) suyu işleme prosesleri sırasında açığa çıkan yan ürün veya atıklardan, önemli oranda pektin gibi çözünür diyet lifleri (ÇDL) içeren, suda çözünür fraksiyonlar elde edilmiş ve bunlar çeşitli amaçlar doğrultusunda nanolif üretiminde kullanılmıştır.

2.4 Portakal

Portakal, dünya genelinde en fazla yetiştirilen meyve türüdür. Ülkemizde de önemli bir yeri olan portakalın, en fazla üretildiği bölge Akdeniz Bölgesidir (Çimen ve ark., 2013). Bu meyve, doğal halde, soyulmuş şekilde ve meyve suyu olarak yüksek miktarlarda tüketilmektedir (Rezzadori ve ark., 2012). Brezilya, dünyanın en büyük portakal suyu üreticisidir. Portakal suyu üretimi sırasında meydana gelen ana yan ürüne posa denilmektedir. Portakal posası, meyvenin yaklaşık olarak %50'lik kısmını oluşturmaktadır (De Moraes Crizel ve ark., 2013) ve meyvenin kabuk, pulp ve tohumlarını içermektedir (Fiorentin ve ark., 2010). Portakal posası, genel olarak hayvan yemi olarak kullanılmakta veya uygunsuz şekilde atılarak ciddi çevresel sorunlara neden olmaktadır (De Moraes Crizel ve ark., 2013). Portakal posasında, kurumadde üzerinden, %29.65 oranında çözünmez diyet lif (ÇZDL) ve %25.17 oranında ise çözünür diyet lif (ÇDL) bulunduğu bildirilmiştir. ÇDL'nin %12.38'i pektinden oluşmaktadır (Macagnan ve ark., 2015).

2.5 Kivi

Kivi meyvesi, dünyada çoğunlukla Yeni Zelanda, Şili, Fransa ve Japonya gibi tropik bölgelerde yetiştirilmektedir (Motohashi ve ark., 2001). Türkiye'de kivi üretiminin en fazla olduğu bölge ise Karadeniz (Anonim, 2002) olmasından dolayı bu çalışmada kivi meyvesi seçilmiştir. Kivi meyvesi taze olarak tüketilmekte veya kivi suyuna işlenmektedir. Kivi suyu prosesinde, kivi meyvelerinin büyük bir kısmı kabuk, posa ve tohumlardan meydana gelen atıklara dönüşmekte ve bu atıklar, toplam kivi mahsulünün yaklaşık olarak %18'ini oluşturmaktadır (Wabnitz, 2008). Kivi posası, kivi suyu endüstrisinin başlıca yan ürünüdür. Kivi ve diğer meyve posalarının hayvan yemi olarak kullanımı geleneksel bir yaklaşım olmakla birlikte (Martin-Cabrejas ve ark., 1995) bunlar, kimi zaman çevreye atılmakta ve önemli derecede çevresel sorunlara neden olmaktadır (Hang ve ark., 1987). Kivi posalarının, elma ve turunçgil posalarında olduğu gibi, pektin ekstraksiyonu için kullanılabileceği belirtilmektedir. Kivi posasında kurumadde üzerinden %18.7 oranında ÇZDL ve %7.11 civarında ise ÇDL bulunduğu bildirilmiştir. ÇDL'nin bileşimini, en fazla %5.67 oranla üronik asit olarak pektin (%5'i yüksek metoksilli) oluşturmaktadır. Rhamnoz, glukoz, ksiloz, galaktoz ve arabinoz ise diğer çözünür bileşenlerdir (Martin-Cabrejas ve ark., 1995).

2.6 Gliserol

Birçok kullanım alanı bulunan gliserol, gıda alanında daha çok ambalaj filmlerinde plastikleştirici madde olarak (Tarique ve ark., 2021), probiyotik ve diğer mikroorganizmaların, dondurucu sıcaklıklarda depolanmasında kriyoprotektan olarak kullanılan renksiz, kokusuz ve tatlı bir bileşiktir (Muzammil ve ark., 2017). Ayrıca probiyotik hücrelerin enkapsülasyonlarında, dondurarak kurutma işleminin uygulandığı enkapsülasyon yöntemlerinde (Pop ve ark., 2015), dondurucu sıcaklıklarda depolanan probiyotikli gıda (Muzammil ve ark., 2017) ve probiyotik hücre içeren mikrokapsüllerin (Jouki ve ark., 2021) ve nanoliflerin (De Gregorio ve ark., 2017; Silva ve ark., 2021) üretiminde kriyoprotektan veya koruyucu olarak kullanılması son zamanlarda araştırılmakta ve yararlı etkileri olduğu bildirilmektedir. Bir diğer konu elektrospinning yöntemiyle probiyotiklerin kapsülasyonlarında, hücrelerin canlılıklarında meydana gelen düşüşün en önemli sebebi olarak, işlem sırasında çözeltideki suyun hızlı bir şekilde buharlaşması ve bunun sonucunda ozmotik ortamda meydana gelen ciddi değişim gösterilmektedir (Fung ve ark., 2011). Dolayısıyla bu çalışmada, elektrospinning işlemi sırasında buharlaşmayarak, ortamda kalan ve hücrelerin ozmotik streslerini azaltan bir sıvı madde olarak da gliserol kullanılabileceği düşünülmüştür. Gliserolün, bazı mikroorganizmaların ozmotik stres durumunda, ozmotik koruyucu olarak sentezledikleri maddelerden olduğu tespiti de (Gülbenzer ve Ökmen, 2012) gliserolün bu konuda yararlı etkilere sahip olacağını göstermektedir. Bu doğrultuda De Gregorio ve ark., (2017) çalışmalarında gliserolün elektrospinning sırasında, hücrelerin canlılıkları üzerinde olumlu etkisi olduğunu; Silva ve ark., (2021) ise önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Bu konuda fazla çalışma bulunmaması ve yapılan az sayıdaki çalışmada da farklı sonuçlar bildirilmesi ve dolayısıyla bu konudaki boşluğu doldurmak için bu çalışmada da enkapsüle olarak *L. acidophilus* probiyotik hücrelerini içeren ve içermeyen nanoliflerin üretiminde gliserol kullanılması ve gliserolün polimer çözeltilerinde, elektrospinning sırasında ve model gıda olarak yoğurtta bazı etkileri araştırılmış ve meyve atığı tozlarının suda çözünür fraksiyonları (KÇF ve PÇF) ile karşılaştırılmıştır.

2.7 Probiyotik

Probiyotik, oral yolla devamlı şekilde ve yeterli miktarda alındığında, konakçının fizyolojisine simbiyotik olarak yararlı etkileri olan canlı bağırsak

mikroorganizmalarıdır. Bu bağlamda genellikle günlük en az 10^9 kob alınması önerilmektedir (De Champs ve ark., 2003). Probiyotikler, diyare, laktoz intoleransı ve iltihaplı bağırsak hastalıkları gibi çeşitli bağırsak bozukluklarına karşı iyi bilinen terapötik etkilere sahiptirler. Son araştırmalar, hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve postmenopozal semptomların hafifletilmesinde probiyotiklerin potansiyel rolünü ortaya koymaktadır (Lye ve ark., 2009). Son yıllarda, yararlı mikroorganizmaların gıdalara ilave edilmesi şeklinde, fonksiyonel gıda üretimi yaygınlaşmaktadır. Ancak doğrudan ilave edilmeleri, gıda prosesi, depolama koşulları ve gastrointestinal geçiş sırasında canlılıklarını koruyamama sorununu ortaya çıkarmaktadır (Lopez-Rubio ve ark., 2009). Gıdadaki stabiliteyi arttırmak amacıyla ürünlere prebiyotik substrat ilavesi, pH ayarlaması, aseptik paketleme, dondurarak kurutma ve soğukta depolama gibi uygulamalar yapılmakla (Knorr, 1998) birlikte probiyotiklerin canlı bir şekilde bağırsağa ulaşabilmeleri için mikro ve nano düzeyde enkapsülasyon uygulamaları da yapılmaktadır (Meiners, 2009). Enkapsülasyon uygulamalarından nanoenkapsülasyonun, yüzey alanı/hacim oranının ve immobilizasyon verimliliğinin yüksek olması, enkapsülant seçiminde esneklik, küçük boyutlarından dolayı gıdalarda duyuşal olumsuzluklarının çok az olması ve düşük ısı iletkenliğı sayesinde ısıl işlemlere karşı koruma sağlaması gibi avantajları bulunmaktadır (Wu ve ark., 2008).

Çeşitli *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* türleri probiyotik olarak belirlenmiş (Fung ve ark., 2011) ve insan tüketiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (López-Rubio ve ark., 2009). Bifidobakteriler, insan gastrointestinal sisteminde yaşayan Gram-pozitif, mutlak anaerobik ve değışik morfolojik özellikler gösteren bakterilerdir (Ishibashi ve Shimamura, 1993). Bifidobakteriler, özellikle emzirilen bebeklerin gastrointestinal sisteminde baskın gruplar arasındadır ve fekal mikrobiyotanın %90'ını temsil etmektedirler. Bu oran, yaş ilerledikçe azalarak, yaklaşık %5-7 dolayına düşmektedir (Favier ve ark., 2003). *Bifidobacterium* cinsi, emzirilen bebeklerde baskın tür olması ve bazı suşlarının faydalı etkilerinden dolayı çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Tanımlanan 32 *Bifidobacterium* türü arasında, *B. animalis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. bifidum* ve *B. infantis*'in, insan sağlığı üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Dolayısıyla çeşitli gıda ürünleri ve takviyelerine probiyotik olarak ilave

edilmektedirler (Doleyres ve Lacroix, 2005). Bifidobakteriler içinde olumsuz çevre koşullarına en dayanıklı suş olan *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 (López-Rubio ve ark., 2009), gıda endüstrisinde ve özellikle de süt ürünleri ile bebek gıdası formüllerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Saxelin ve ark., 2005). Gram-pozitif ve çubuk şeklinde olan *Lactobacillus acidophilus* (Ishibashi ve Shimamura, 1993) ise, özellikle süt endüstrisi alanında en çok kullanılan ve araştırılan türlerden biridir. Genellikle ağızda, gastrointestinal sistemde ve kadınların idrar ve genital kanallarında bulunan sağlıklı insan bakteriyel florasının önemli bir parçasıdır (Cannon ve ark., 2005; Madigan, 2006). En yaygın vajinal hastalıklardan olan bakteriyel vajinozun, pH gibi ortam koşullarının değişmesinden dolayı, *Lactobacillus*'da meydana gelen eksiklik (Mastromarino ve ark., 2009) ile bağlantılı olduğu bildirilmektedir (Castellano Filho ve ark., 2010). Bu hastalığın önlenmesi için yeterli düzeyde probiyotik kullanımı önerilmektedir (MacPhee ve ark., 2010). Bu çalışmada model probiyotik olarak, *Laktobacillus acidophilus* seçilmiştir.

FAO/WHO'ya göre, probiyotiklerin olumlu etkilerinin görülebilmesi için, yoğurta tüketim anında 10^7 kob/g'dan fazla probiyotik bakteri bulunması önerilmektedir. Ancak yüksek asit içeriği, ortamda bakteriyosinlerin varlığı ve fermentasyon koşulları nedeniyle, probiyotik bakterilerin sayısı genellikle tüketim anına kadar azalmaktadır (Ferdousi ve ark., 2013). Bu azalmanın *Bifidobacteria* türlerinde daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (Kailasapathy, 2006). Yoğurt gibi süt ürünlerine, probiyotiklerin canlılık sürelerini yükseltmek amacıyla, prebiyotik veya prebiyotik kaynağı diyet liflerin ilavesi ve probiyotiklerin enkapsülasyonu şeklinde çalışmalar yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, yoğurda arpa kepeği ilavesiyle yoğurttaki *Lactobacillus acidophilus* sayısının, 28 günlük depolama süresince, FAO/WHO tarafından önerilen sayının üzerinde tutulabildiği bildirilmiştir (Hasani ve ark., 2017). Mikroenkapsüle probiyotiklerin yoğurtlara ilavesi şeklinde yapılan çalışmalar sonucunda da, ürünlerin depolama periyodu süresince, probiyotiklerin canlılık sayılarının önemli ölçüde korunduğu bildirilmiştir (Sultana ve ark., 2000; Picot ve Lacroix, 2004; Kailasapathy, 2006; Krasaekoopt ve ark., 2006; Krasaekoopt ve Watcharapoka, 2014). Yoğurt, probiyotiklerin özellikle de laktobasil ve bifidobakteria türlerinin taşınmasında en çok kullanılan gıda maddesidir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001; Wang ve ark., 2012). Bu çalışmada yoğurt

örneklerine, yeterli sayıda serbest ve nano-enkapsüle probiyotik hücre ilavesi yapılmıştır.

2.8 Yoğurt

Sütün, *Lactobacillus denbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* karışımından oluşan spesifik bir starter kültürle fermentasyonu sonucu elde edilen yoğurt (Tamime ve Robinson, 2007), iyi bir besin kaynağı olmakla birlikte, immünolojik uyarım, kansere karşı koruma ve kolesterol redüksiyonu gibi sağlık açısından yararlı özellikler de göstermektedir (Wolf ve ark., 2015). Yoğurt gibi süt ürünleri, diyet lif ve yararlı mikroorganizmalarca zengin gıdaların geliştirilmesi açısından oldukça önemli görülmektedirler (Sendra ve ark., 2010). Taze veya kuru meyvelerden ve tahıllardan elde edilen diyet lifler (Moreira ve ark., 2017) ve probiyotikler (Cruz ve ark., 2013a) yoğurtlara ilave edilmektedir. Bu şekilde geliştirilen ürünler, tüketiciler tarafından da tercih edilmektedir (Sendra ve ark., 2010). Yoğurda ilave edilen probiyotiklerin, yoğurdun raf ömrü boyunca, canlılık oranlarının yüksek seviyelerde tutulabilmesi, yoğurda fonksiyonel özellikler kazandırılması ve sağlık açısından oldukça önemli görülmektedir. Ayrıca Dünya genelinde gıda yasası gereği, bir gıdanın probiyotikli gıda olabilmesi için tüketim anında belli sayılarda (10^6 - 10^9 kob/g) probiyotik hücre içermeleri bir zorunluluktur (Szajewska ve ark., 2006). Ancak moleküler oksijen, asitlik, hidrojen peroksit gibi stres faktörleri ve starter kültürlerin antagonistik etkileri gibi olumsuzluklar probiyotik hücrelerin istenilen sayı değerleri düzeyinde kalmalarını zorlaştırmaktadır (Mortazavian ve ark., 2007). Bu amaçla yukarıda da bahsedildiği üzere bu çalışmada bazı gıda endüstrisi yan ürün veya atıklarından (portakal ve kivi posaları) elde edilen suda çözünür fraksiyonlardan (çözünür diyet lif kaynağı), elektrospinning tekniğiyle, doğal bir yardımcı polimerle (pullulan), nanolif üretim potansiyelleri araştırılmıştır. Ayrıca, üretilen nanoliflerle nanoenkapsülasyonu gerçekleştirilen probiyotik hücrelerin, yoğurt örneklerine ilavesi ve yoğurdun raf ömrü boyunca canlılık düzeyleri ve stabiliteyi tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın, yukarıda farklı başlıklar altında ifade edilen amaçlarını özetlemek gerekirse;

1. Portakal ve kivi posaları gibi meyve endüstrisi atıklarından, çözünür diyet lif kaynağı olarak suda çözünür fraksiyonları (sırasıyla PÇF ve KÇF) elde etmek ve Elektrospinning (elektro-döndürme) yöntemiyle bunlardan çeşitli gıda teknolojisi uygulamaları için, prebiyotik nitelikte nanolifler üretmek. Bununla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Gıda endüstriyel atıklarının değerlendirilmesi ve ekonomik olarak fazla getirisi olmayan yan ürünlerin, katma değerli ürünlere dönüştürülmeleri ekonomik açıdan oldukça önemli görülmektedir.

2. Bu prebiyotik nanoliflerle probiyotik *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini enkapsüle etmek ve enkapsülasyon sırasında PÇF ve KÇF'nin, hücrelerin canlılıklarına etkilerini araştırmak. Bu alanda çeşitli prebiyotik maddelerin (fruktooligosakkarit ve inülin gibi) etkileri araştırılmış ancak araştırdığımız kadarıyla meyve atığı çözünür fraksiyonlarının etkileriyle ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Probiyotik hücreler için faydalı olan prebiyotik özellikte bileşikler (pektin gibi) ve elektro-döndürülen polimer çözeltilerinin kolay bir şekilde spinlenebilmesi ve bu çözeltilerden yüksek kalitede nanoliflerin üretilmesi için iletkenlik gibi çeşitli özelliklerini iyileştirebilecek çeşitli bileşikler (pektin, şeker ve mineral madde gibi) içeren PÇF ve KÇF gibi düşük maliyetli doğal maddeleri kullanmanın ekonomik olduğu düşünülmektedir.

3. *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini ve bir kriyoprotektan olan gliserolü bir arada enkapsüle etmek ve enkapsülasyon sırasında gliserolün çeşitli etkilerini araştırmak. Bu uygulamanın, enkapsüle hücrelerin dondurucu sıcaklıklarda muhafazalarında faydalı olacağı düşünülmektedir. Nanoliflerle enkapsülasyon sırasında gliserolün hücreler üzerindeki etkisiyle ilgili az sayıda çalışma bulunmakla birlikte bu çalışmaların sonuçları çelişmektedir.

4. Suda çözünür fraksiyonlardan (PÇF ve KÇF) nanolifler üretilirken, yardımcı madde olarak polivinil alkol gibi sentetik polimerler yerine doğal ve gıda sınıfından olan pullulanın kullanılması amaçlanmıştır. Sentetik maddelerin gıdalara ilavesinin, gıda güvenliği ve tüketici talepleri açısından istenmeyen bir durum olduğu düşünülmektedir.

5. Pullulan, PÇF, KÇF ve gliserol kullanılarak üretilen ve enkapsüle şekilde probiyotik hücreleri içeren/içermeyen nanolifleri, pıhtısı kırılmış fonksiyonel yoğurt

üretiminde kullanmak. Bu konuda literatürde benzer bir çalışma bulunmakta ancak çalışmada, nanolif üretiminde kullanılan malzemelerin ve probiyotik hücrelerin farklı olduğu ve yoğurdun sınırlı sayıda özelliğinin araştırıldığı görülmüştür.

6. Ayrıca bu nanoliflerin ve yapılarında bulunan pullulan, PÇF, KÇF ve gliserolün, yoğurt ortamında probiyotik hücrelerin canlılıkları ve yoğurdun çeşitli özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırılması. Bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.9 Önceki Çalışmalar

Bu çalışmanın şekillenmesinde yol gösterici ve bu çalışmayla amaç açısından kısmen benzer olan, literatürde yer alan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Fung ve ark., (2011) çalışmalarında soya fasulyesi ve palm bitkisinin endüstriyel atıklarından elde edilen, çözünür diyet lif (ÇDL) ağırlıklı, sulu çözeltilerin, *Lactobacillus acidophilus*'un nanoenkapsülasyonunda kullanılabilirliği araştırılmıştır. Elektrospinning teknolojisi ile ÇDL çözeltilerinden, %8'lik poli-(vinil alkol) kullanılarak nanolifler üretilmiştir. Soya küspesinden elde edilen çözünür fraksiyonların spinning çözeltisi, diğerlerine göre daha yüksek pH (5.39 ± 0.01) ve daha yüksek viskozite (578.00 ± 11.02 mPa.s) değerlerine sahip olmakla birlikte bundan üretilen nanoliflerin daha ince olduğu bildirilmiştir. Çalışmada nanoliflerin termal stabilite analiz sonuçları, ısı işlem gören gıdalarda probiyotiklerin ısıya karşı korunmasında nanoliflerin yararlı olduklarını göstermiştir. Elektrospinning koşullarında hücre canlılıklarının %78.6-90 oranında olduğu ve nanoliflerle enkapsülasyonun, 21 günlük depolama boyunca soğutma sıcaklığında, hücrelerin canlılıklarını önemli düzeyde koruduğu bildirilmiştir.

Feng ve ark., (2018) çalışmalarında poli-(vinil alkol) çözeltilisine prebiyotik olarak, farklı oranlarda fruktooligosakkaritler (FOS) ilave ederek ürettikleri nanoliflerle probiyotik *Lactobacillus plantarum*'un enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Floresan mikroskop görüntüsü ve taramalı elektron mikroskobu (SEM), canlı hücrelerin nanoliflerde başarılı bir şekilde kapsüllendiğini (ortalama $\text{çap} = 410 \pm 150$ nm) ve uygulanan voltajın, canlılık üzerinde önemli bir etkisi olmadığını göstermiştir ($P > 0.05$). Elektrospinning polimer çözeltilisine %2.5 (w/w) FOS dahil edildiğinde, önemli ölçüde daha fazla bir canlılık (1.1 log) tespit

edildiği bildirilmiştir (P<0.001). Ayrıca serbest hücrelerle karşılaştırıldığında, elektrospun FOS/PVA nanoliflerinde kapsüllenen hücrelerin canlılık oranlarının, nemli ısı işlem (60 ve 70°C) koşullarında önemli ölçüde daha yüksek olduğu da bildirilmiştir.

Ceylan ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada poli-(vinil alkol) ve sodyum aljinat bazlı nanoliflerin (VSL) üretimi ve probiyotik bakterilerin (*L. rhamnosus*), poli(vinil alkol) ve sodyum aljinat bazlı nanoliflerde (VSPBL) nanokapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada balık filetosunda Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB), Psikrofilik Bakteri (TPB) ve ayrıca Maya ve Küf büyümesini sınırlamak için VSPBL ve VSL nanolifleri kullanılmıştır. VSL ve VSPBL için zeta (ζ) potansiyeli, sırasıyla -6.29 mV ve -7.74 mV; termal bozunma analizinde (50°C'de) VSL ve VSPBL'nin kütlelerinde, sırasıyla <%5 ve >%5'e karşılık gelen bir düşüş ve nanoliflerin morfolojik özellikleri ise, 60-580 nm çaplarında tespit edilmiştir. VSL ve VSPBL'nin, balık filetolarında TMAB ve TPB büyümesini etkili bir şekilde %38'e kadar geciktirdiği bildirilmiştir.

Yu ve ark., (2020) çalışmalarında laktik asit bakterilerinin canlılık sayılarını arttırmak için Elektrospinning yöntemi kullanarak, polilaktik asit (PLA)/fruktooligosakkarit (FOS) bazlı nanoliflerle enkapsülasyon yapmışlardır. Çalışmada elektrospinning voltajı 16 kV, şırınga iğnesiyle toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm ve solüsyon besleme hızı ise, 1 mL/h olarak seçilmiştir. Taramalı elektron mikroskopu, transmisyon elektron mikroskopu ve lazer taramalı konfokal mikroskop ile laktik asit bakterilerinin, elektrospun nanoliflerde başarılı bir şekilde kapsüllendiği tespit edilmiştir. İn vitro olarak, simüle edilmiş sindirim testi sonucu elektrospun nanoliflerde kapsüllenen laktik asit bakterilerinin, canlılık oranının %72'den fazla olduğu görülmüştür.

Wei ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada probiyotik *Lactobacillus plantarum* hücreleri, Elektrospinning tekniğiyle polivinil alkol (PVA) ve polivinil alkol/ipek fibroin (PVA/İF) nanolifleri ile kapsüllenmiştir. Çalışmada yapay mide suyunda 37°C'de 2 saat süre sonunda PVA/İF/*L. plantarum*'un, serbest *L. plantarum* ile karşılaştırıldığında, canlılık oranlarının belirgin şekilde daha yüksek olduğunun mikrobiyolojik testlerle tespit edildiği bildirilmiştir.

Škrlec ve ark., (2019) yaptıkları çalışmada probiyotik *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, monolitik poli-(etilen oksit) ve kompozit poli-(etilen oksit)/liyoprotektan nanoliflerinde kapsüle edilmiştir. *L. plantarum*'un poli-(etilen oksit) çözeltisindeki ilk konsantrasyonunun, elektrospinningden sonra yüksek sayıda canlılığı için en kritik parametre olduğu ve elektrodöndürme sırasında uygulanan elektrik voltajı ve bağıl nemin, *L. plantarum* canlılığı üzerinde önemli bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir. Ayrıca nano-liflerde amorf liyoprotektan (özellikle trehaloz) varlığının, *L. plantarum* hücreleri ile liyoprotektan etkileşimlerine bağlı olarak, *L. plantarum*'un canlı kalmasında etkili olduğu ve nano-liflerdeki *L. plantarum* hücrelerinin düşük sıcaklıkta 24 hafta boyunca stabil kaldığı bildirilmiştir.

Hirsch ve ark., (2021) probiyotik bir mikroorganizma olarak *Lactobacillus paracasei*'nin elektrospinning tekniğiyle enkapsülasyonunu çalışmışlardır. Çalışmada, bakterilerin canlılık kaybını en aza indirmek için farklı stabilize edici yardımcı maddeler (glukoz, laktoz, mannitol, sakaroz, trehaloz, inülin ve yağsız süt) ile birleştirilmiş polivinil alkol-polietilen oksit (PVA-PEO) bazlı polimer sistemleri geliştirilmiştir. Yardımcı maddelerin kullanımı, elektro-döndürme ve uzun süreli depolama sırasında hücrelerin canlılık oranlarının yüksek olmasını sağlamış ve ozmotik ve dehidrasyon stresini azaltmada etkili olmuştur. Trehaloz, sakkaroz ve yağsız süt uygulanmasının, elektro-döndürme sırasında %80 veya daha yüksek düzeyde bakteriyel canlılık oranı sağladığı; ayrıca yağsız süt ve mannitol içeren formülasyonlarda bir yıl sonunda 0.5 log ve 0.2 log birim canlılık kaybı tespit edildiği bildirilmiştir.

Duman ve Karadağ (2021), çalışmalarında probiyotik *Lactobacillus fermentum*, polivinil alkol, sodyum aljinat ve üç farklı inülinde oluşan elektrospun nanoliflerde kapsüllenmiştir. Çalışmada inülin ilavesinin, elektrospinning çözeltilerinin elektriksel iletkenliği ve yüzey gerilimi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı; üretilen nanoliflerin ortalama çaplarının, 200 ile 400 nm arasında olduğu; probiyotiklerin kapsülleme verimliliğinin, %74.26 ile %80.63 arasında bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, FTIR analizi ile nanoliflerde bakteri varlığını doğrulamış ve inülin ilavesinin, nanoliflerin kopma değerlerinde gerilme mukavemetini ve uzamayı iyileştirdiğini ve serbest hücrelerle karşılaştırıldığında, kapsüllenmiş bakterilerin, 25, 4 ve -18°C'de 8 haftalık depolama sırasında daha

yüksek canlılık sayılarına sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca inülin ilaveli kompozit nanolifler içine kapsüllenmiş hücrelerin, simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvılarında, daha yüksek düzeyde dayanıklılık gösterdikleri bildirilmiştir.

Ma ve ark., (2021) çalışmalarında elektrospinning tekniğiyle farklı oranlarda Arap zıncığı (AZ) ve pullulan (PUL) karışımlarını içeren nanoliflerin üretimi ve bu liflerle *Lactobacillus* hücrelerinin enkapsülasyonunu araştırmışlardır. Pullulan çözeltilerine AZ ilavesinin iletkenliği arttırdığı, yüzey gerilimini ve viskoziteyi düşürdüğü görülmüştür ($P < 0.05$). Taramalı elektron mikroskopuyla AZ ilavesinin daha küçük çaplı nanoliflerin oluşumunu sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca X-ışını spektrumları ve Fourier transform kızılötesi spektrumları analizleriyle AZ ve PUL moleküllerinin birbirleriyle karışabildiği ve hidrojen bağı etkileşimleri kurdukları görülmüştür. *Lactobacillus* yüklü 20:80 oranında AZ/PUL elektrospun nanoliflerinin, dondurarak kurutmaya (%80.92-89.84) kıyasla, daha yüksek canlılık oranları (%85.38-97.83) sağladığı ve 4°C'de 28 günlük depolama sırasında hücrelerin canlılıklarını korudukları bildirilmiştir.

Mohaisen ve ark., (2019) yaptıkları çalışmada probiyotik *L. brevis* E25 bakteri hücrelerini elektrospinning yöntemi ile sodyum aljinat/PVA bazlı nanoliflerde kapsüllemiş ve bunları, ayran, elma ve portakal sularına ilave ederek hücrelerin canlılıklarını araştırmışlardır. *L. brevis* içeren nanoliflerin karakterizasyon çalışmalarında Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), XRD ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) teknikleri kullanılmıştır. Serbest ve nano kapsüllü probiyotik bakterileri içeren ayran, elma ve portakal sularında altı haftalık süre boyunca ayran için 3 günde bir, elma ve portakal suyu için ise her hafta bakteriyel canlılık, pH, briks ve renk değerlendirilmiştir. Kapsüllenmiş probiyotik hücrelerin, serbest probiyotiklere kıyasla, üç üründe de önemli bir canlı kalma oranı gösterdikleri bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada, *Lactobacillus paracasei* KS-199 hücreleri ortalama 305 nm çapında aljinat bazlı elektrospun nanolifler içinde kapsüllemişlerdir. Çalışmada, enkapsülasyonla in vitro olarak simüle mide suyunda (canlılık oranı %64.1'den 70.8'e) ve kefirde hücrelerin canlılık oranlarının (6.65'ten 7.38 log kob/mL'ye) arttığı bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2020).

Ghorbani ve Maryam (2021), elektrospinning yöntemini kullanarak, laktik asit bakterilerini (LAB) ve Bifidobakterilerin bazı probiyotik suşlarını mısır nişastası (MN) ve sodyum aljinat (SA) nanoliflerinde kapsüle etmiş ve bunların, yoğurt ürünündeki canlılıklarını araştırmışlardır. Kontrol ve probiyotik içeren nanoliflerin zeta potansiyelleri sırasıyla, -10.83 ve -12.57 mV olarak bildirilmiştir. MN/CS nanolifleri, asidik bir ortamda Bifidobakterilere kıyasla LAB üzerinde daha önemli bir koruyucu etki göstermiştir. Nanoliflerde kapsüle edilen LAB sayılarında, 55, 60 ve 65°C'de sırasıyla 0.19, 0.85 ve 1.05 log kob ve Bifidobakterilerde 0.27, 0.46 ve 1.24 log kob azalma görülmüş; enkapsüle edilmeyen hücrelerde daha fazla bir kayıp görülmüştür. Yoğurdun 20 günlük depolanması sonunda, nanokapsüllenmiş LAB ve Bifidobakter sayısında sırasıyla, 0.19 (%97.9 hayatta kalma) ve 0.28 (%96.9 canlı kalma) log kob düşüş; kapsüllenmemiş hücrelerde ise sırasıyla, 1.12 (%87.7 canlı kalma) ve 1.25 (%86.3 canlı kalma) log kob canlılık kayıpları bildirilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada, PVA polimer çözeltilerine ilave edilen *P. agglomerans* hücrelerinin, gliserol içeren çözeltilerde elektrospinning öncesi canlılık sayılarının, gliserol içermeyen çözeltilere göre, daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (De Gregorio ve ark., 2017).

Silva ve ark., (2021) PVA yapı malzemesiyle probiyotik *Lactobacillus* hücrelerini nanoliflerde enkapsüle ettikleri çalışmalarında, polimer çözeltilerine kriyoprotektan madde olarak %5 oranında gliserol ilave etmişlerdir. Araştırmacılar, gliserol ilave edilen çözeltilerden elde edilen nanoliflerde hücrelerin canlılık sayılarının, istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

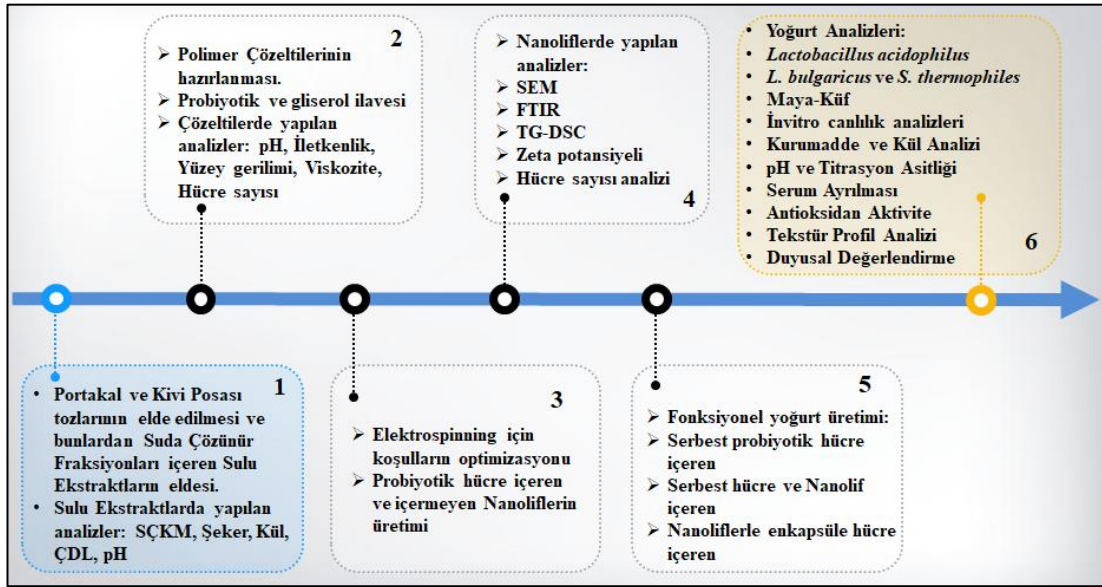
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada materyal olarak inek sütü (Dost pastörize süt, İstanbul), YC-350 yoğurt starter kültürü (CHR Hansen, Danimarka), pullulan (Hayashibara Co., Ltd./NAGASE Group, Japonya), kivi (Hayward, Ordu), portakal (Finike, Antalya) ve probiyotik mikroorganizma olarak *Lactobacillus acidophilus* THT 030101 (Techno High Technology S.A., Belçika) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

Bu çalışma, Şekil 3.1’de görüldüğü gibi 6 aşamada gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 Çalışmanın Aşamaları

3.2.1 Portakal ve Kivi Posalarının Elde Edilmesi

Araştırdığımız ve bildiğimiz kadarıyla Türkiye’de kivi işleyen bir meyve suyu işletmesinin bulunmaması ve portakal suyu üreten işletmelerin ise, projeyi gerçekleştirdiğimiz Ordu İli’ne uzak olması ve dolayısıyla ıslak olan posanın taşınması sırasında meydana gelebilecek bozulma ve kalite kayıplarından kaçınmak amacıyla, kivi ve portakal posaları laboratuvar ortamında elde edilmiştir. Bu amaçla, kivi meyveleri yıkama, soyma ve parçalama işlemlerinden geçirildikten sonra, portakal meyveleri ise, kabukları soyulmaksızın sadece kabuğun önemli miktarda yağ içeren turuncu tabakası rendelendikten sonra, fiziksel ekstraksiyonla (presleme) posa ve meyve suyu kısımlarına ayrılmıştır. Literatürde kivi posasına çekirdeklerin

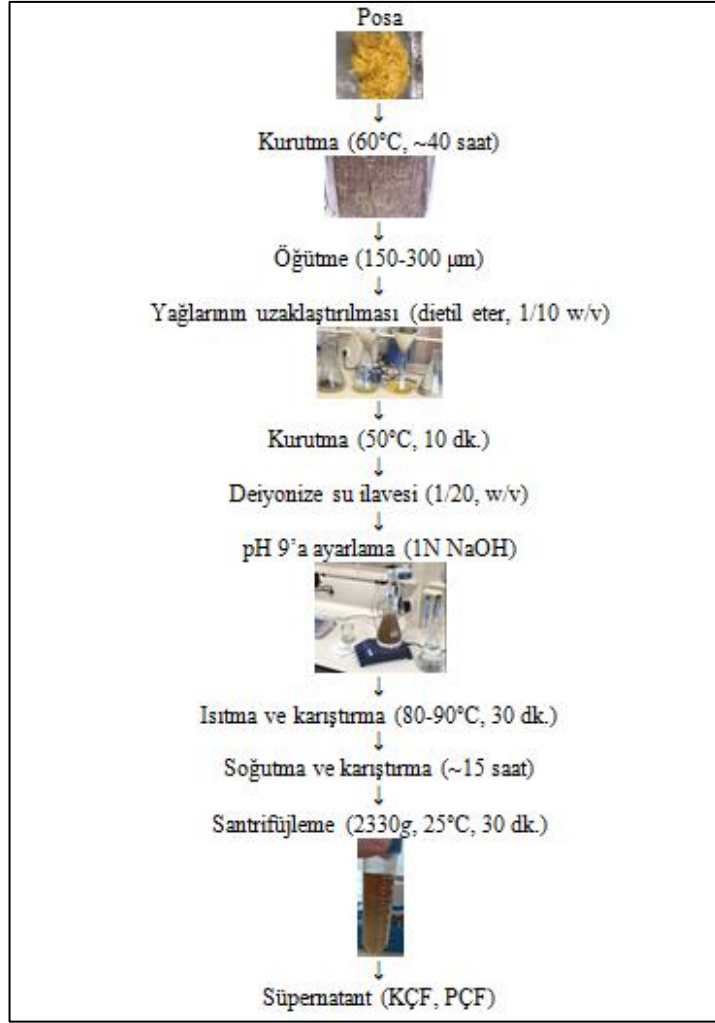
dâhil edilmediği görülmektedir; ancak bu çalışmada, daha fazla miktarda çözünür diyetlif (ÇDL) elde etmek için çekirdekler de dâhil edilmiştir.

3.2.2 Portakal ve Kivi Posalarından Suda Çözünür Fraksiyonların Elde Edilmesi

Bu işlem saf su ile akstraksiyon şeklinde yapılmıştır. Bu amaçla Şekil 3.2’de gösterildiği gibi posalar yıkanıp, etüvde (Nükleon, Ankara) 60°C’de sabit bir ağırlığa kadar (~40 saat) kurutulduktan sonra, bıçaklı bir öğütücüyle 150-300µm boyutlarında öğütülmüştür. Daha sonra, materyallerin yağlarından arındırılması, 1/10 (w/v) oranında dietil eter kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla dietil eter, beherlerde materyallere eklenmiş ve ağızları kapalı bir şekilde 30 dakika boyunca bir manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışımlar, katı kısım dibe tam olarak çökünceye kadar bekletilmiş ve yağ içeren sıvı kısımlar, dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Bu işlem, yağın tamamen uzaklaşması için iki kez tekrarlanmış ve materyaller, sonraki aşamalara geçmeden önce, kalan dietil eterin buharlaşması amacıyla etüvde 50°C’de 10 dakika bekletilmiştir (Rathnayake ve ark., 2018). Daha sonra her bir materyalden belli miktarlarda alınarak 2 L’lik şişeler içerisine konulmuştur. Üzerlerine 1/20 (w/v) oranında saf su ilave edilmiştir. Oluşturulan bu karışımlar, daha fazla çözünür diyet lif elde etmek için, pH’ları 1 N NaOH ile 9’a ayarlanarak, ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda ısıl işleme tabi tutulmuştur (80-90°C, 30 dakika). Daha sonra ısıtma kapatılarak, gece boyunca (~15 saat) manyetik karıştırıcıda karıştırmaya bırakılmıştır. Ertesi gün santrifüj (Nuve NF 800R, Türkiye) işlemine (2330g, 25°C, 30 dk.) tabi tutularak, çözünmeyen kısımlar ile çözünür fraksiyonları içeren süpernatant, birbirinden ayrılmış ve süpernatant (üstte kalan sıvı kısım), sonraki aşamaya kadar -20°C’de depolanmıştır (Fung ve ark., 2010). Portakal ve kivi posaları tozlarından elde edilen süpernatantlara sırasıyla, portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları (PÇF) ve kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları (KÇF) isimleri verilmiştir.

3.2.3 Süpernatantlarda Yapılan Analizler

Portakal ve kivi süpernatantlarında pH, suda çözünür kurumadde, şeker, kül ve çözünür diyet lif analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.2 Posalardan Sulu Ekstraktların (KÇF ve PÇF) Üretimi Akış Şeması

3.2.3.1 pH Analizi

Süpernatantlarda pH, sıvılara pH metre (Mettler Toledo Seven Compact, ABD) probunun direkt olarak daldırılmasıyla tespit edilmiştir (Cen ve ark., 2006).

3.2.3.2 Suda Çözünür Kurumadde (SÇKM) Analizi

Çözünür kurumadde analizi, dijital refraktometre (Hanna HI96800, Woonsocket, ABD) ile 20°C’de tespit edilmiştir (Golding ve ark., 2006).

3.2.3.3 Şeker Analizi

Şeker analizi (fruktoz, glikoz, sakkaroz ve maltoz), Ordu Arıcılık Araştırma Enstitüsü’nde yaptırılmıştır. Kısaca, kivi posası tozu sulu ekstraktı (KÇF) direkt ve portakal posası tozu sulu ekstraktı (PÇF) ise yoğun olduğu için 1/2 oranında deiyonize su ile seyreltikten sonra mikro filtre ile filtre edilmişlerdir. Daha sonra

her bir sıvıdan 5 mL alınarak 100 mL'ye tamamlanmış ve bu çözeltilerden yaklaşık olarak 20 µL alınarak, HPLC-Refraktif Index Dedektör (Thermo Fisher Scientific, ABD) ve amino kolonu (sıcaklık 30°C) kullanılarak analizleri yapılmıştır. Bu enstrümental analizde mobil faz olarak asetonitril:su (80:20, v/v) kullanılmış ve mobil faz akış hızı 1.3mL/dak.'ya ayarlanmıştır. Sonuçlar, sulu ekstrakt üzerinden yüzde (%) olarak verilmiştir.

3.2.3.4 Kül Analizi

Kül oranı (%) analizi için krozelere her bir sıvıdan yaklaşık 20 g konulmuş ve krozeler, içindeki sıvılar kuruyuncaya kadar (~4 saat), etüvde 105°C'de bekletilmiştir. Daha sonra krozeler kül fırınına (Protherm Furnaces, Türkiye) konulmuş ve kademeli olarak sıcaklık 550°C'ye yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta kroze içindeki materyaller, beyaz-gri kül rengine dönüşüncüye kadar yakma işlemine tabi tutulmuştur. Kül miktarı, sıvı ürün üzerinden yüzde (%) olarak verilmiştir (Tayone, 2015).

3.2.3.5 Çözünür Diyet Lif (ÇDL) Analizi

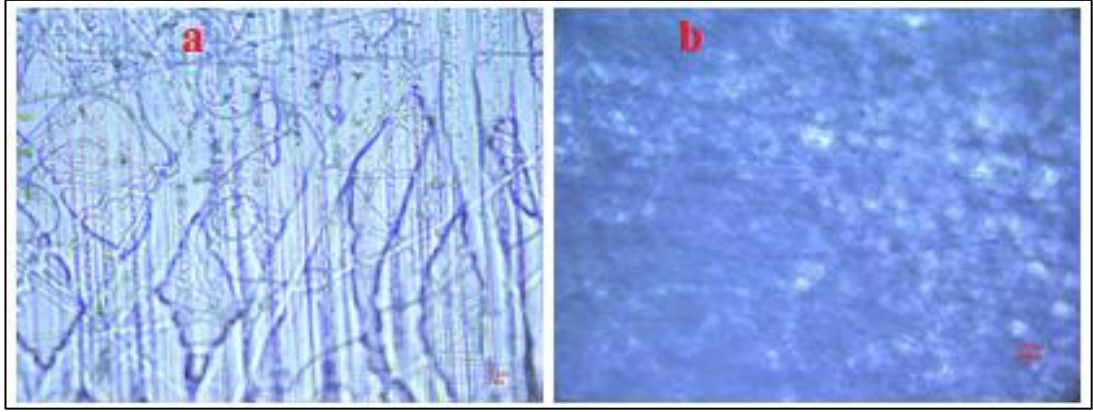
Portakal ve kivi posaları süpernatantlarında çözünür diyet lif (ÇDL) analizi, nişastanın ve proteinin enzimatik olarak uzaklaştırılmasına dayanmaktadır. Bu amaçla, ısıya dayanıklı amilaz, proteaz ve amiloglikosidaz enzimleri kullanılmıştır. Sıvılar sırasıyla, α-amilaz (100°C, pH 6, 30 dakika), proteaz (60°C, pH 7.5, 30 dakika) ve amiloglukozidaz (60°C, pH 4.5, 30 dakika) ile muamele edilmiştir (Prosky ve ark., 1988). Daha sonra oluşan süspansiyon süzülerek, elde edilen filtrat, oda sıcaklığında soğutulmuştur (Rathnayake ve ark., 2018). Filtrat üzerine 5 katı kadar soğuk etil alkol ilave edilmiş ve oluşan çökelti kaba kağıt filtre yardımıyla alınarak etüvde kurutulmuştur. ÇDL miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır (Prosky ve ark., 1988).

3.2.4 Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

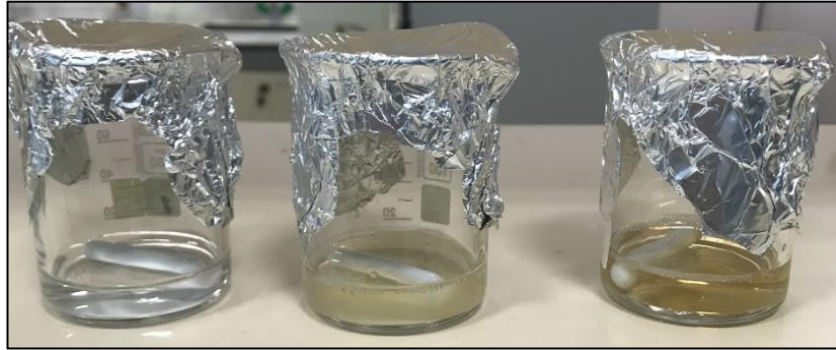
Polimer çözeltileri hazırlanırken Wang ve ark. (2019), Celebioglu ve Uyar (2021) ve Ma ve ark. (2021)'nin kullandığı yöntemler dikkate alınmıştır. Literatürde pullulandan nanolif üretmek amacıyla daha yaygın olarak, %15, 20 ve 25 konsantrasyonlarda (w/v), su bazlı pullulan çözeltilerinin kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışmada pullulan çözeltileri hazırlanırken, bunlardan farklı konsantrasyonlar da

denenmiştir. Bu doğrultuda ön çalışmalarda çözücü olarak su kullanılarak, %10, 12, 15, 20 konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmış ve nanolif üretilebilirliği araştırılmıştır. %20 konsantrasyonda nanolif üretiminin çok başarılı olmadığı; diğer konsantrasyonlarda ise oluşan naoliflerin çapları farklı olmakla birlikte, herhangi bir olumsuz durum olmadan nanoliflerin oluştuğu görülmüştür. Çalışma sırasında gözlemleyebildiğimiz kadarıyla, burada ifade edilen olumsuz durumlar şunlardır: Çözeltinin sürekli olarak, damlalar halinde kollektöre ulaşması veya damlaların zaman zaman kollektöre atılmasıyla önceden oluşan lif matrikslerinde, damla boyutlarında lifsiz alanların oluşması, proses boyunca zaman zaman lif yerine veya lifle birlikte, yetersiz buharlaşmadan dolayı, çözeltinin kollektöre atılarak daha önce oluşmuş liflerin bu duruma bağlı olarak ıslanması ve tamamen veya orta kısımlarının jelimsi bir yapıya dönüşmesi, oluşan liflerin yüksek çaplara sahip olması ve iğne ucunun tıkanmasıdır. Bunların çoğu, çıplak gözle gözlemlenebilen olumsuzluklardır. Ayrıca lif oluşup/oluşmadığı veya oluşan liflerin çaplarının uygun olup/olmadığı öncelikle optik mikroskobu ve sonra daha ayrıntılı olarak, SEM ile tespit edilmiştir. Şekil 3.3'te verilen optik mikroskobu görüntülerinden a görüntüsü, yüksek pullulan konsantrasyonu (%20) durumunda nanoliflerin tam olarak oluşmadığını; b görüntüsü ise, daha düşük konsantrasyonda (%15) nanoliflerin başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermektedir. Çalışmamızla ilgili yukarıda sıralanan bu olumsuzluklar üzerinde, diğer şartların uygun şekilde ayarlanması durumunda, daha çok çözelti konsantrasyonlarıyla birlikte bağıl nem ve sıcaklığın etkili olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla çalışmada, bağıl nem uygun seviyelere düşürülemediğinden, polimer çözelti konsantrasyonları düşük tutulmuştur.

Çözelti konsantrasyonları ayarlanırken, probiyotik hücrelerin çözeltilere ilavesinde steril deiyonize su kullanılması ve dolayısıyla bu işlem çözeltiyi seyrelttiğinden, ana çözeltilerin yüksek konsantrasyonlarda hazırlanabileceği düşünülmüş ve bu doğrultuda ana çözeltiler, %20 (w/v) konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Seyrelmeler sonucunda çözeltilerin son konsantrasyonları %13 (w/v) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.3 %20 (a) ve 15 (b) Konsantrasyonlarda Pullulan Çözeltilerinden Elde Edilen Liflerin Optik Mikroskobu Görüntüleri



Şekil 3.4 Sırasıyla PS, PPÇS ve PKÇS Ana Polimer Çözeltileri

Bu çalışmada, bileşim açısından 3 farklı ana polimer çözeltisi %20 konsantrasyonlarda hazırlanmıştır (Şekil 3.4):

1. Pullulan çözeltisi (PS),
2. Pullulan (P)/portakal posası tozu çözünür fraksiyonları (PÇF) çözeltisi (PPÇS) ve
3. Pullulan (P)/kivi posası tozu çözünür fraksiyonları (KÇF) çözeltisi (PKÇS).

PS ana çözeltisinde, çözünür kurumaddenin %100'ü pullulandan oluşmaktadır. PPÇS ve PKÇS ana çözeltilerinde ise çözünür kurumaddenin %5, 10 ve 15'i PÇF veya KÇF'den oluşmaktadır. Pullulan dışındaki diğer bileşiklerin (PÇF ve KÇF) oransal olarak düşük tutulmasının sebepleri: Bunların tek başlarına nanolif üretimine uygun olmaması ve oldukça düşük çözünür kurumadde (SÇKM) içeriğine sahip olmalarıdır.

Ana çözeltiler, beherler içerisinde pullulan ve diğer bileşiklerin (PÇF, KÇF) yukarıda belirtildiği oranlarda karıştırılarak, üzerlerine steril deiyonize suyun ilave edilmesi ve laboratuvar sıcaklığında (20-25°C), manyetik karıştırıcıda 150 rpm hızında, ~16 saat süreyle karıştırılması şeklinde hazırlanmıştır. Hazırlanan polimer

çözeltilerine probiyotik hücre süspansiyonları eklendiğinde, konsantrasyonun %13'e düştüğü görülmüştür. Dolayısıyla probiyotik içermeyen çözeltiler de son konsantrasyon %13 olacak şekilde, deiyonize steril su ile seyreltilmiştir.

Bu çalışmada, gliserol içeren nanoliflerin üretimi ise, %3 oranında (v/v) gliserol ilaveli polimer çözeltilerinden gerçekleştirilmiştir. Gliserol ilaveli polimer çözeltilerinin hazırlanmasında, hacimce gliserol miktarı kadar, daha az su kullanılmıştır. Gliserol oranı ön çalışmalarla belirlenmiş ve gliserolün, lif oluşumunu, morfolojilerini ve çaplarını çok fazla etkilemeyecek şekilde en yüksek oranı (%3) seçilmiştir.

Çalışmada nanolif üretmek amacıyla %20 konsantrasyonlu ana polimer çözeltilerinden, %13 konsantrasyonlarda, hazırlanan son polimer çözeltileri aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Kodları ve Bileşimi

Nanolif kodu	Bileşimi
PS	Pullulan
PKÇS	Pullulan/KÇF
PPÇS	Pullulan/PÇF
PGS	Pullulan/gliserol
PKÇGS	Pullulan/KÇF/gliserol
PPÇGS	Pullulan/PÇF/gliserol
PPS	Pullulan/probiyotik
PKÇPS	Pullulan/KÇF/probiyotik
PPÇPS	Pullulan/PÇF/probiyotik
PGPS	Pullulan/gliserol/probiyotik
PKÇGPS	Pullulan/KÇF/gliserol/probiyotik
PPÇGPS	Pullulan/PÇF/gliserol/probiyotik

KÇF: Kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt), PÇF: Portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt). Probiyotik ve/veya gliserol içeren çözeltilerde pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF oranı çözünür kurumadde üzerinden 95/5. Probiyotik: *Lactobacillus acidophilus*. Gliserol içeren çözeltilerde gliserol oranı %3'tür.

3.2.5. Polimer Çözeltilerinde Yapılan Analizler

Elektrospinning prosesinden önce tüm çözeltilerin, pH, iletkenlik, yüzey gerilimi ve viskoziteleri, uygun teknikler kullanılarak belirlenmiştir. Çözünür kurumadde üzerinden %10 ve 15 oranında KÇF veya PÇF içeren polimer çözeltilerinden üretilen nanolifler, çalışmada kullanılmadıkları için bu çözeltilerin analizleri yapılmamıştır.

3.2.5.1 pH Analizi

Çözeltilerin pH değeri, bir pH metre (Mettler Toledo Seven Compact, ABD) probunun çözeltilere doğrudan daldırılması şeklinde ölçülmüştür (Ma ve ark., 2021).

3.2.5.2 İletkenlik Analizi

Çözeltilerin iletkenliği, laboratuvar sıcaklığında (~23°C) iletkenlik ölçer cihazı (Hach, sension7, ABD) ile ölçülmüştür (Celebioglu ve Uyar, 2021). Cihazın probu, polimer çözeltilerine doğrudan daldırılarak ölçümler yapılmıştır.

3.2.5.3 Yüzey Gerilimi Analizi

Çözeltilerin yüzey gerilimi ölçümleri, temas açısı ölçüm cihazı (Theta Lite 101, Biolin Scientific Attesion, Finlandiya) kullanılarak yapılmıştır (Ma ve ark., 2021). Temas açısı ölçüm cihazı, damla görüntülerini kaydederek, zamana bağlı damla şeklini otomatik olarak analiz etmektedir.

3.2.5.4 Viskozite Analizi

Çözeltilerin viskoziteleri, Brookfield viskozimetre ile 3 numaralı mil kullanılarak laboratuvar sıcaklığında (~23°C), çözeltiler 5 dakika dengelendikten sonra, ölçülmüştür (Geng ve ark., 2005). Ölçümler, 50 mL'lik beher içerisinde 25 mL çözelti kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6 Probiyotik Hücre Süspansiyonlarının Hazırlanması

Probiyotik hücre süspansiyonları hazırlanırken, López-Rubio ve ark., (2009) yöntemleri dikkate alınmıştır. Öncelikle probiyotik hücre süspansiyonunda, yaklaşık olarak 10^{10} hücre/mL sayısına ulaşmak için model probiyotik hücre olarak seçilen *Laktobacillus acidophilus* DVS kültüründen kaç mg alınması gerektiği belirlenmiştir. Bu amaçla kültürden 50, 100 ve 150 mg alınarak, ayrı ayrı cam tüplerde, MRS broth (Neogen Corporation, Lansing) besiyerinde 18 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında probiyotik hücreler, santrifüjleme (4000 rpm, 6 dakika) yoluyla toplanıp, iki kez steril deiyonize su ile yıkanmış ve her birinin üzerine steril deiyonize sudan 2 mL eklenerek vortekle karıştırılmıştır. Bu karışımlardan 1'er mL alınarak dökme plak yöntemiyle MRS agar (Neogen Corporation, Lansing) besiyerinde 37°C'de, anaerobik olarak 48 saat süreyle inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda petri kutularındaki hücre kolonileri sayılmış ve 10^{10} hücre/mL sayısına 100 mg örnekte ulaşıldığı tespit

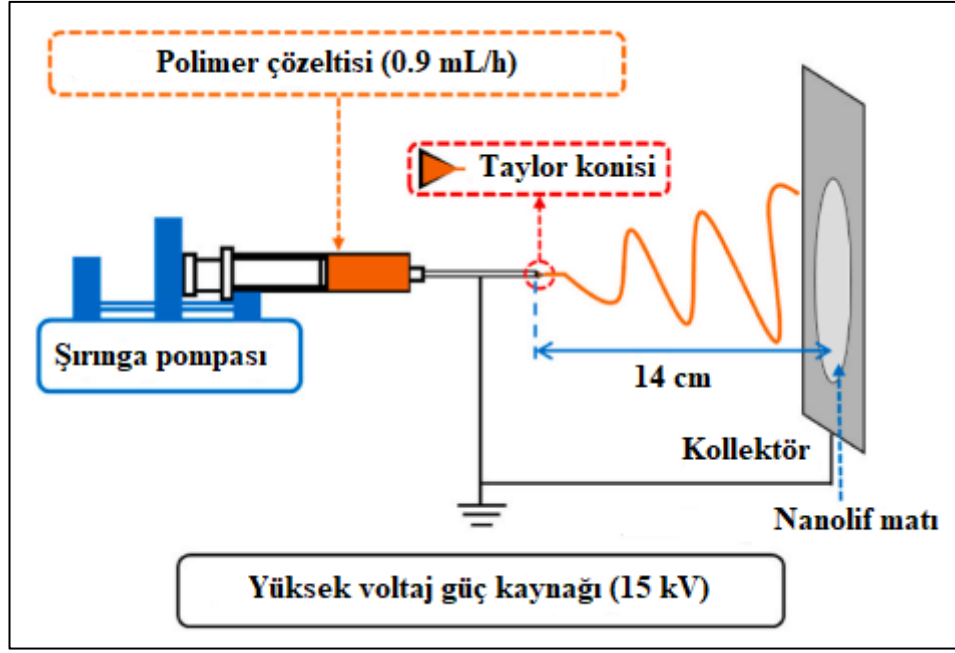
edilmiştir. Bu tespit, 3 tekerrürle doğrulanmıştır. Dolayısıyla çalışmada, enkapsülasyonları yapılan hücrelerin süspansiyonları hazırlanırken, buna dikkat edilmiştir. Bu doğrultuda steril cam tüplere 100 mg kültür tartılmış ve yukarıdaki aşamalar takip edilmiştir. Son aşamada, cam tüpler içinde steril deiyonize su ile yıkanan, hücrelerin üzerine steril deiyonize su eklenerek, vorteksle karıştırılmış ve bu karışımlar, nanolif üretimi için hazırlanan polimer çözeltilerine, yaklaşık olarak 3 mL çözeltide 10^{10} sayıda hücre olacak şekilde, eklenmiştir.

3.2.7 Elektrosinning İçin Koşulların Optimizasyonu

Koşullar optimize edilirken, öncelikle nanoliflerin üretilmesine odaklanılmıştır. Daha sonra ise, yüksek hızda üretim ve probiyotik hücrelerin proses sırasında çok fazla etkilenmemeleri için düşük voltaj uygulanabilirliği üzerinde çalışılmıştır. Literatürde pullulan polimer çözeltilerinden nanolif üretiminin, genellikle Çizelge 3.2’de yer alan şartlarda yapıldığı görülmektedir. Literatür, ön çalışmalar ve amaçlarımız doğrultusunda elektrosinning prosesi için sıcaklık 23°C, bağıl nem %50, voltaj 15 kV, besleme hızı 0.9 mL/saat ve iğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe 14 cm olarak seçilmiştir (Şekil 3.5). Kullandığımız elektrosinning sisteminin güvenlik kabini olmadığı için, elektrosinning prosesinin yapıldığı ortamın sıcaklık ve bağıl nemi, laboratuvarında bulunan klimayla ayarlanmıştır. Çalışmayı yaptığımız ortam, çok nemli olduğu için (%70-80) bağıl nem, %50’nin altına düşürülemediğiştir.

Çizelge 3.2 Literatüre Göre Pullulan Polimer Çözeltilerinden Nanolif Üretiminin Yapıldığı Koşullar

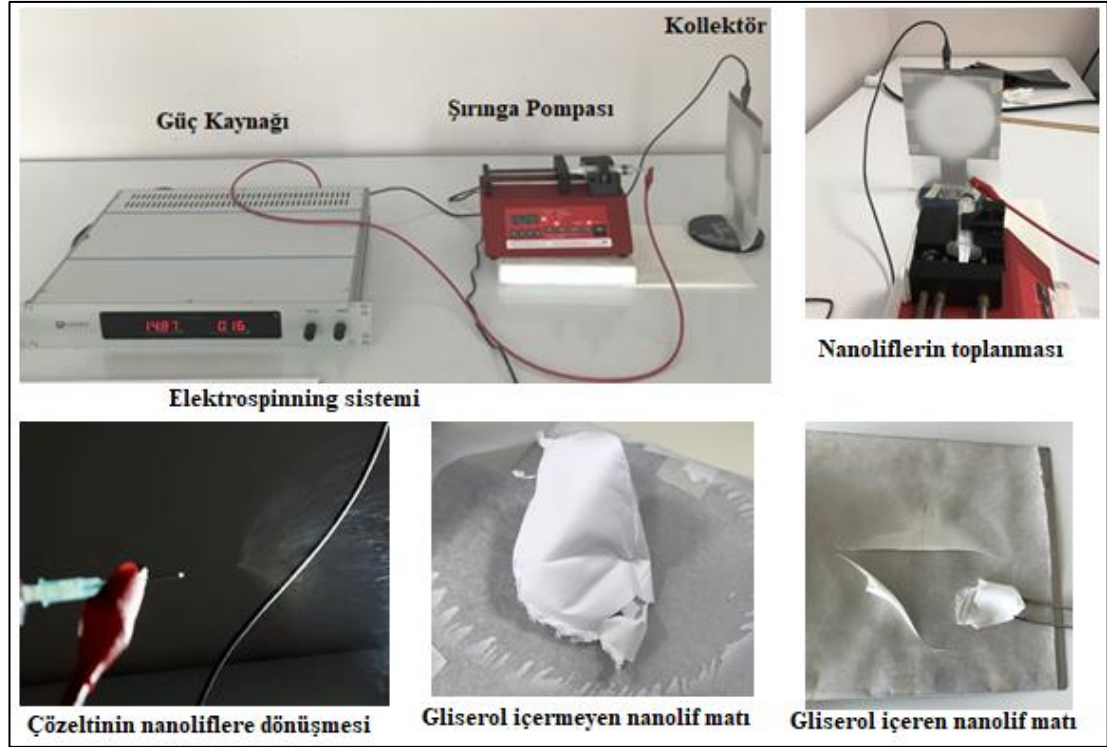
Sıcaklık (°C)	Bağıl nem (%)	Voltaj (kV)	Besleme hızı (mL/h)	Mesafe (cm)	Referans
25	30-40	16	0.4	10	Ma ve ark., 2021
20	25	15	0.5	15	Celebioglu ve Uyar, 2021
-	-	20	0.5	20	Wang ve ark., 2019
25	50	15	0.5	10	Qin ve ark., 2019



Şekil 3.5 Elektrospinning Prosesi Koşulları

3.2.8 Nanolif Üretimi ve Probiyotiklerin Enkapsülasyonu

Çalışmada nanolif üretimi, ayarlanabilir yüksek voltajlı (0-30 kV) güç kaynağı, şırınga pompası ve metal plakadan (kollektör) oluşan bir elektrospinning sistemiyle (Şekil 3.6) gerçekleştirilmiştir. Oluşan nanoliflerin, kolay bir şekilde ve en az kayıpla toplanabilmesi için, metal kollektör yüzeyi yağlı kağıt ile kaplanmıştır. Ana polimer çözeltileri (%20 konsantrasyon), son konsantrasyonları %13 olacak şekilde ayarlanmış ve karıştırıldıktan sonra (300 rpm, 50 dakika) 10 mL'lik şırıngaya 2.5 mL çözelti konularak, nanolif üretimi yapılmıştır. Enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren nanoliflerin üretimi ise, polimer çözeltileri içine Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı şekilde hazırlanan hücre süspansiyonları ilave edilmiş ve manyetik bir karıştırıcı ile 300 rpm ve 25°C'de 50 dakika süreyle karıştırma işlemi uygulandıktan sonra gerçekleştirilmiştir (Ma ve ark., 2021). Çalışmada probiyotiklerin enkapsülasyonunda kullanılan polimer çözeltileri hazırlanırken, çözünen kurumadde üzerinden, P/PCF ve P/KÇF oranları 95/5 olarak seçilmiştir. Çünkü 90/10 ve 85/15 oranlarında hazırlanan çözeltilerden nanolif üretimi başarılı bir şekilde gerçekleşse de probiyotik hücrelerin enkapsülasyonunda aynı başarıya ulaşılamamıştır. Çözeltilerde hücre gibi kolloidal parçacıkların bulunmasının, nanolif üretimini zorlaştırdığı düşünülmektedir.



Şekil 3.6 Elektrospinning Sistemi ve Nanolif Üretimiyle İlgili Görüntüler

Çalışmada polimer çözeltilerinden üretilen nanoliflerin kodları ve bileşimi aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.3)

Çizelge 3.3 Deneysel Nanolifler ve Bileşimi

Nanolif kodu	Bileşimi
PF	Pullulan
PKÇF	Pullulan/KÇF
PPÇF	Pullulan/PÇF
PGF	Pullulan/gliserol
PKÇGF	Pullulan/KÇF/gliserol
PPÇGF	Pullulan/PÇF/gliserol
PPF	Pullulan/probiyotik
PKÇPF	Pullulan/KÇF/probiyotik
PPÇPF	Pullulan/PÇF/probiyotik
PGPF	Pullulan/gliserol/probiyotik
PKÇGPF	Pullulan/KÇF/gliserol/probiyotik
PPÇGPF	Pullulan/PÇF/gliserol/probiyotik

KÇF; Kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt), PÇF: Portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt). Probiyotik: *L. acidophilus*. Probiyotik ve/veya gliserol içeren nanoliflerde pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF oranı kurumadde üzerinden 95/5.

3.2.9 Nanoliflerde Yapılan Analizler

PPF, PKÇPF ve PPÇPF nanoliflerinde, SEM, FTIR ve probiyotik hücre canlılık tespiti analizleri yapılmıştır. Diğer nanoliflerde, bu analizlerle birlikte TG-DSC ve zeta potansiyeli analizleri de yapılmıştır. Toplam kurumadde üzerinden %10

ve 15 oranında KÇF ve PÇF içeren nanoliflerde SEM dışında, diğer analizler yapılmamıştır. Zeta potansiyeli analizi, 3 tekerrürlü ve diğerleri ise, 2 tekerrürlü yapılmıştır. Nanoliflerle ilgili analiz sonuçları verilirken, KÇF ve PÇF oranları belirtilmediği sürece, oranlarının %5 olduğu dikkate alınmalıdır.

3.2.9.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Probiyotik hücre içeren ve içermeyen elektrospun nanoliflerin morfolojileri, 15 kV voltaj ve yüksek vakum altında taramalı elektron mikroskobu (SEM, Hitachi, SU 1510, Japonya) kullanılarak tespit edilmiştir. SEM görüntülerini elde etmek için 3 farklı büyütme (1.00 KX, 5.00 KX ve 10.00 KX) uygulanmıştır (Ceylan ve ark., 2018). SEM görüntüleri alınmadan önce daha belirgin görüntüler elde etmek amacıyla nanolif matlarının yüzeyleri 25 mA akımda 1 dakika boyunca altınla kaplanmıştır. Ayrıca nanoliflerin ortalama çapları, ImageJ programı ile SEM görüntüleri üzerinden 30 farklı yerden ölçüm yapılarak belirlenmiştir.

3.2.9.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Nanolif materyallerinin kimyasal bileşimi ve mevcut olan bağları, 400-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında FTIR spektroskopisi (Nicolet 510 model) kullanılarak, karakterize edilmiştir (Fung ve ark., 2011).

3.2.9.3 Termal Karakterizasyon (TG-DSC)

Nanoliflerin termal karakterizasyonu, bir Termogravimetrik analiz cihazı (TG-DSC) (Setaram Instrumentation Labsys Evo, Fransa) ile liflerin bozunma davranışının (kütle kayıpları, verdiği/aldığı enerji miktarı) incelenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu amaçla her bir lif numunesinden krozelere 5 mg konularak, 25-600°C sıcaklık aralığında bir azot atmosferi altında (50 mL/dak) 10°C/dak ısıtma hızında nanolifler incelenmiştir (Ma ve ark., 2021; Celebioglu ve Uyar, 2021).

3.2.9.4 Zeta Potansiyeli Analizi

Nanoliflerin Zeta (ζ) potansiyeli, yani kolloidal dispersiyon stabilitesi veya elektroforetik hareketliliği, bir Zetasizer (Malvern, Nano ZS90, İngiltere) kullanılarak, Li ve ark. (2021a)'nın belirttiği yönteme göre tespit edilmiştir. Bu amaçla, nanoliflerden 1'er mg alınarak, 1'er mL deiyonize su içinde vorteksenerek çözüldürülmüş (%0.01 konsantrasyon) ve bu şekilde hazırlanan nanolif çözeltilerinde, 25°C'de ölçümler alınmıştır. Ayrıca konsantrasyonun etkisini tespit

etmek amacıyla nanoliflerin %1 konsantrasyonlu sulu çözeltilerinde de ölçümler yapılmıştır. Ölçümler, 3 tekerrürlü yapılmıştır. Elde edilen veriler, ZetaSizer programı ile değerlendirilerek, sonuçlar mV cinsinden verilmiştir. Zeta potansiyelleri ölçülen nanolif çözeltilerinin, iletkenlik ve pH değerleri de tespit edilmiştir.

3.2.9.5 Probiyotik Hücre İçeren Polimer Çözeltilerinde ve Nanoliflerde Hücre Sayısı Tespiti

Bu analiz yapılırken Ma ve ark. (2021)'nin çalışmaları referans alınmıştır. Bu doğrultuda *Lactobacillus acidophilus* hücrelerinin canlılıkları, elektrospinning işleminin uygulanmasından önce polimer çözeltilerinde ve sonra ise, üretilen nanoliflerde tespit edilmiştir. Bu amaçla probiyotik hücre süspansiyonları içerecek şekilde, elektrospinning prosesine hazır hale getirilmiş polimer çözeltilerinden 1'er mL; enkapsülasyon şeklinde probiyotik hücreleri içeren nanoliflerden ise, 1 g alınarak steril tamponlanmış peptonlu sularda (%2.5, w/v) gerekli seyreltmeler yapılmış ve dökme plak yöntemiyle MRS agar besiyerine ekim yapıldıktan sonra, 37°C'de 48 saatlik inkübasyon yapılmıştır. Süre sonunda petri kutularındaki koloniler sayılmış ve bu sayıların logaritmik transformasyonu alınarak, canlılık sonuçları verilmiştir. Hücre içeren nanoliflerde seyreltmeler yapılmadan önce, hücrelerin serbest hale geçmeleri için nanolifler, 30 dakika süreyle tamponlanmış peptonlu su içinde manyetik karıştırıcıyla (400 rpm) karıştırılarak, çözünmeleri sağlanmıştır. Enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren nanoliflerin üretiminde elektrospinning işleminin, hücrelerin canlılıkları üzerindeki etkisi (canlı kalma oranı) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

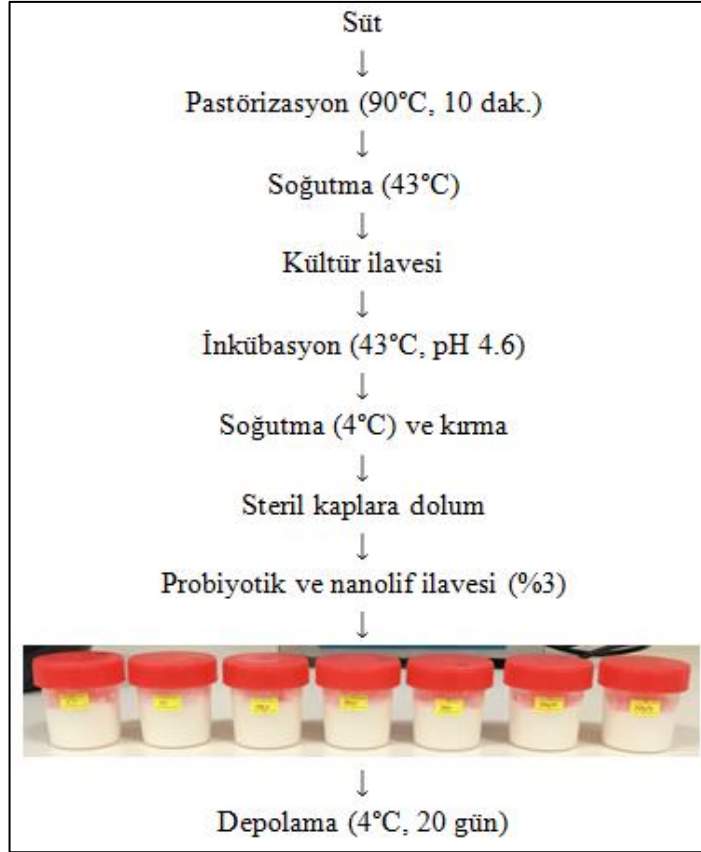
$$\text{Canlı kalma oranı (\%)} = (\log_{10}N / \log_{10}N_0) \times 100 \quad (3.1)$$

Burada N_0 ve N , sırasıyla elektrospinning işleminin uygulanmasından önce ve sonra, hücrelerin (kob/g) tespit edilen toplam canlılık sayılarıdır.

3.2.10 Yoğurt Üretimi ve Yoğurt Örneklerinde Yapılan Analizler

3.2.10.1 Yoğurt Üretimi

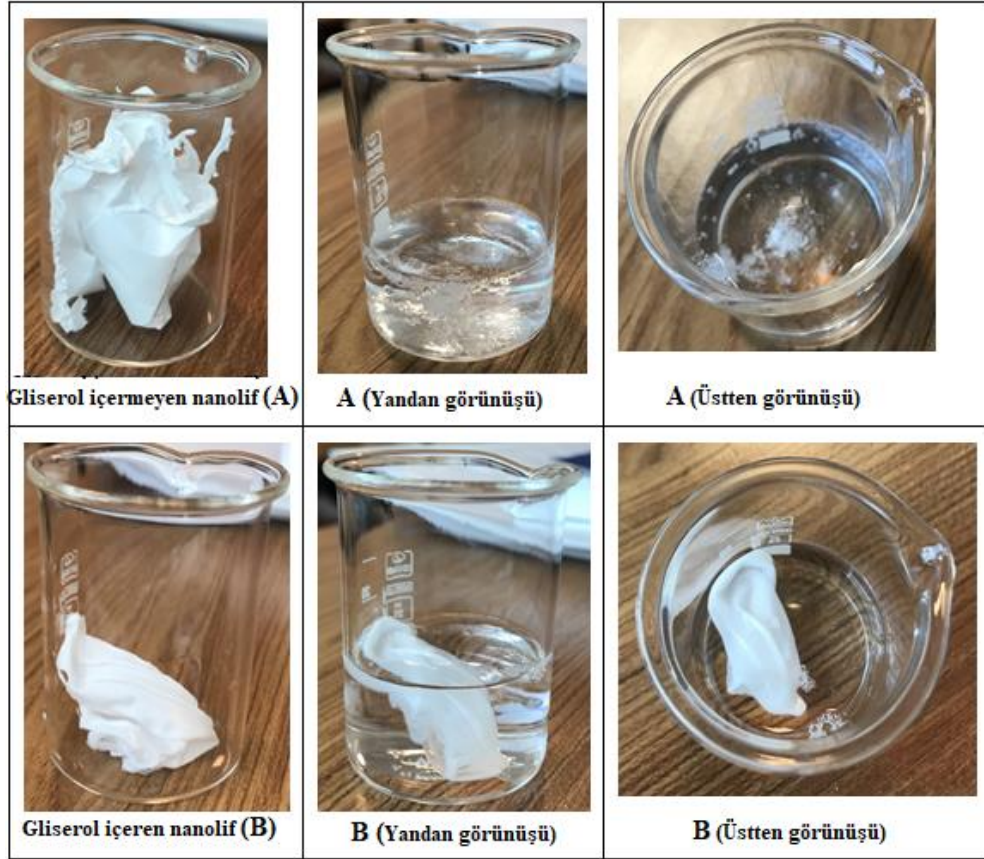
Yoğurt üretimi yapılırken Öztürk ve ark. (2018)'nin çalışmaları referans alınmıştır. Yoğurt üretiminde yerel marketlerden alınan ve bileşimi bilinen süt kullanılmıştır. Yoğurt üretimi Şekil 3.7'de gösterildiği gibi kısaca, sütün 90°C'de 10 dakika süreyle pastörize edildikten sonra, hızla 43°C'ye kadar soğutulması ve %2



Şekil 3.7 Probiyotik ve/veya Nanolif İlavesiyle Fonksiyonel Yoğurt Üretimi

oranında yoğurt kültürü inoküle edilerek, pH 4.6'ya ulaşana kadar, 43°C'de inkübasyona bırakılması şeklinde gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda elde edilen yoğurtlar, 4°C'de bir gece bekletilmiş ve ertesi gün steril koşullarda dikkatli bir şekilde karıştırıldıktan sonra, 100 mL hacminde steril kaplara 80 g kadar pıhtısı kırılmış yoğurt ile birlikte probiyotik hücre (*Lactobacillus acidophilus*) ve/veya %3 oranında nanolifler konulmak üzere, 7 farklı ürün bileşimi oluşturulmuştur. Bütün yoğurt örnekleri başlangıçta yaklaşık olarak 10^7 kob/g probiyotik hücre içerecek şekilde ayarlama yapılmıştır. Bu ayarlama, enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren nanoliflerin hücre sayısı içeriklerine göre yapılmıştır.

Bu çalışmada gliserol içermeyen nanolif yapılarının, Şekil 3.8'de görüldüğü gibi su ortamında, gliserol içeren nanoliflere göre, daha hızlı dağıldıkları veya çözüldükleri gözlemlenmiştir. Dolayısıyla bu nanoliflerle enkapsüle edilen probiyotik hücrelerin yoğurt ortamında hızlı bir şekilde serbest hale geçecekleri



Şekil 3.8 Gliserol İçermeyen (A) ve Gliserol İçeren (B) Nanolif Matlarının Soldan Sağa Doğru Sırasıyla, Başlangıçta ve Su Ortamında 30 Dakika Sonraki Görüntüleri

düşünülerek, yoğurt ortamında probiyotik taşıyıcı madde olarak daha az çözünen gliserollü nanolifler kullanılmıştır.

Yoğurt örneklerine ilave edilen maddeler ve bu şekilde elde edilen yoğurtların kodlamaları aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 Deneysel Yoğurt Örneklerinin Bileşimi

Örnek kodu	Eklenecek madde
KY (Kontrol)	Serbest probiyotik hücreler
PY	Pullulan/gliserol nanolif + serbest probiyotik hücreler
PKÇY	Pullulan/KÇF/gliserol nanolif + serbest probiyotik hücreler
PPÇY	Pullulan/PÇF/gliserol nanolif + serbest probiyotik hücreler
PPY	Enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren pullulan/gliserol nanolif
PKÇPY	Enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren pullulan/KÇF/gliserol nanolif
PPÇPY	Enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren pullulan/PÇF/gliserol nanolif

KÇF; Kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt), PÇF: Portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt). Probiyotik: *L. acidophilus*, pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF oranı kurumadde üzerinden 95/5. Yoğurt örneklerine %3 oranında nanolif ilavesi yapılmıştır.

Yoğurt örnekleri, farklı zamanlarda, aynı koşul ve bileşimde olmak üzere iki tekerrürlü üretilmiş ve elde edilen ürünler, 4°C'de 20 gün boyunca depolanmıştır. Depolama süresi boyunca yoğurt ürünlerinde 2 paralel olarak, aşağıdaki analizler yapılmıştır.

3.2.10.2 Mikrobiyolojik Analizler

Yoğurt örnekleri içinde bulunan serbest ve nano-enkapsüle probiyotik hücrelerin, 4°C'de yoğurdun depolama süresi boyunca yoğurt koşullarındaki ve gastrointestinal sistemde (in-vitro) geçiş sırasındaki canlılıkları tespit edilmiştir. Ayrıca yoğurt örneklerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus* ve maya-küf sayısı tespiti de gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 10'ar g yoğurt örnekleri bir dizi seyreltmelere tabi tutulmuş ve uygun besi yerlerinde dökme plak yöntemiyle hücre sayıları belirlenmiştir. Kapsüllenmiş şekilde nanoliflerde bulunan probiyotik hücrelerin serbest kalması için, seyreltmelerden önce yoğurt örnekleri, 25°C'de tamponlanmış peptonlu su çözeltisinde, karıştırmak suretiyle, 30 dk süreyle çözüldürülmüştür. Mikrobiyolojik analizler, yoğurt örneklerinde, yoğurt koşulları için depolamanın 1, 5, 10, 15 ve 20. günlerinde; gastrointestinal koşullar için ise, depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde yapılmıştır. Gastrointestinal koşullarda, sadece probiyotik hücrelerin stabiliteyi araştırılmıştır.

3.2.10.2.1 *Lactobacillus acidophilus*'un Yoğurt Koşullarında Canlılık Analizleri

Yoğurt örneklerinde bulunan probiyotiklerin canlılık testleri Vinderola ve Reinheimer (1999)'e göre yapılmıştır. Bu doğrultuda dökme plak yöntemiyle petri kutularına ekim yapılmış ve petri kutularına %0.15 oranında safra tuzu (Biolife, Milano-İtalya) içeren MRS agar besiyeri dökülmüştür. Bu petri kutuları, 37°C'de 48 saat süreyle aerobik olarak inkübasyona bırakıldıktan sonra petri kutularında görünen bireysel koloniler, yoğurt örneklerinin bir gramı başına koloni oluşturan birimler olarak sayılmış (kob/g) ve bu sayıların logaritmik transformasyonu alınarak sonuçlar verilmiştir (log kob/g). Yapılan ön çalışmalarda *Lactobacillus acidophilus*'un hem aerobik hem de anaerobik koşullarda gelişebildiği ve her iki koşulda da aynı hücre sayılarının tespit edildiği görülmüştür. Dolayısıyla, yoğurt kültürlerinden *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un gelişimini baskılamak için safra tuzu içeren besiyeri kullanılmasının yanı sıra, aerobik koşullarda inkübasyon yapılmasının daha etkili olabileceği düşünülmüştür.

3.2.10.2.2 Yoğurt Örneklerinde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* Sayısı Tespiti

Yoğurt örneklerinde Streptokokların sayısı, M17-agar besiyerinde (Merck, Almanya) 37°C’de 48 saatlik aerobik inkübasyon sonunda ve Laktobasillerin ise MRS-agar besiyerinde 37°C’de 48 saatlik anaerobik inkübasyon sonunda tespit edilmiş ve petri kutularında görünen bireysel koloniler, yoğurt örneklerinin bir gramı başına koloni oluşturan birimler (kob g⁻¹) olarak sayılmış ve bu sayıların logaritmik transformasyonu alınarak sonuçlar, log kob/g olarak verilmiştir (IDF, 1988).

3.2.10.2.3 Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Sayısı Tespiti

Yoğurt örneklerinde, depolama süresince maya ve küf sayımı, steril laktik asitle pH değeri 3.5’e ayarlanmış Potato Dekstroze Agar (PDA, Merck, Almanya) besi yerinde dökme plak yöntemiyle yapılmıştır (Harrigan, 1998).

3.2.10.2.4 Simüle Gastrointestinal Suların (SGI) Hazırlanması ve Yoğurt Örneklerinde Bulunan Probiyotiklerin Gastrointestinal Koşullarda Canlılık Analizleri

Gastrointestinal ortamlar, (mide sıvısının pH değeri hariç) Ranadheera ve ark. (2014)’nın kullandığı yöntemle oluşturulmuştur. Kısaca, simüle edilmiş mide sıvısı, pepsinin steril tuzlu su (%0.5 w/v) içinde 3 g/L’lik bir nihai konsantrasyona kadar süspansiyon edilmesiyle hazırlanmış ve pH, 0.1 N HCl ile 3’e ayarlanmıştır. Simüle edilmiş bağırsak sıvısı ise, steril tuzlu su içine pankreatinin, 1g/L’lik konsantrasyona kadar, süspansiyon edilmesi ve safra tuzlarının (%0.3, w/v) eklenmesiyle hazırlanmış ve pH, 0.1 N steril NaOH ile 8’e ayarlanmıştır. Sıvıların sterilizasyonu için membran filtre kullanılmıştır (0.22 µm).

İn vitro canlılık analizlerinde, Zhang ve ark. (2018)’nin kullandığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Öncelikle 50 mL’lik steril falkon tüplerine serbest ve nano-enkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneklerinden 1’er g tartılarak, üzerlerine simüle edilmiş mide sıvısından 9’ar mL aktarılmış ve falkonlar, ağızları kapalı bir şekilde çalkalamalı inkübatörde (100 rpm) 37°C’de 2 saat süreyle tutulmuştur. Süre sonunda falkonlarda bulunan örnekler üzerine tamponlanmış peptonlu su aktararak, falkonlar 4 dakika boyunca 4000 rpm’de santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı kısımlar boşaltılmıştır. Kalan kısımlar üzerine 9’ar mL simüle bağırsak sıvısı aktararak, aynı şartlarda 4 saat bekletilmiştir. Süre sonunda, aynı

şekilde santrifüjleme yapılmış ve sıvı kısımlar dökülerek, kalan kısımlarda Vinderola ve Reinheimer (1999)'e göre dökme plak yöntemiyle hücre sayımı yapılmış ve canlılık oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık oranı (\%)} = (\log_{10}N / \log_{10}N_0) \times 100 \quad (3.1)$$

Burada N ve N_0 , sırasıyla in vitro koşullara tabi tutulduktan sonra ve tabi tutulmadan önce probiyotik hücrelerin (kob/g) tespit edilen canlılık sayılarıdır.

3.2.10.3 Fizikokimyasal Analizler

3.2.10.3.1 Kurumadde ve Kül Analizi

Yoğurt örneklerinde toplam kurumadde değerleri, sadece depolamanın 10. gününde yüzde olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla, temiz ve sabit ağırlığa getirilmiş cam kaplara 5'er g yoğurt örnekleri tartılmış ve kaplar etüve konularak, 105°C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar örneklerin kurumaları sağlanmıştır. Daha sonra, kurumuş örnekleri içeren kaplar tartılmış ve hesaplamalar yapılarak, sonuçlar bulunmuştur (Bradley ve ark., 1992).

Yoğurt örneklerinde, toplam ağırlık üzerinden, yüzde kül miktarı da depolamanın 10. gününde Bradley ve ark., (1992)'nin belirttiği şekilde tespit edilmiştir. Bu amaçla temiz, kurutulmuş ve darası alınmış krozelere yoğurt örneklerinden yaklaşık olarak 3'er g tartılmış ve kül fırınında 550°C'ye kadar kademeli olarak sıcaklık artırılarak, bu sıcaklıkta gri-beyaz renkli kül oluşuncaya kadar yakma işlemi uygulanmıştır. Daha sonra, krozeler tartılmış ve hesaplamalar yapılmıştır.

3.2.10.3.2 pH ve Titrasyon Asitliği Analizi

Yoğurt örneklerinin pH değerleri, örnekler homojen hale getirildikten sonra bir dijital pH metre (Mettler Toledo SevenCompact, ABD) ile ölçülmüştür.

Titrasyon asitliği için yoğurt örneklerinden 10'ar g tartılarak, üzerlerine 10'ar mL deiyonize su ilave edilmiş ve örnekler karıştırılarak homojen olmaları sağlanmıştır. Daha sonra, 0.1 N NaOH ile fenolftalein varlığında açık pembe renk oluşuncaya kadar titrasyon yapılmış ve sonuçlar, aşağıdaki formülden yüzde laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Bradley ve ark., 1992). pH ve toplam asitlik değerleri, depolamanın 1, 5, 10, 15 ve 20. günlerinde tespit edilmiştir.

$$\%Asitlik (Laktik asit cinsinden) = 100 \times [(V \times N \times 0.090) / m] \quad (3.2)$$

V: Titrasyonda sarf edilen 0.1 N NaOH çözeltisinin hacmi (mL)

N: Titrasyonda kullanılan ayarlı NaOH çözeltisinin normalitesi

m: Analiz edilen numunenin ağırlığı (g)

3.2.10.3.3 Serum Ayrılması Analizi

Serum ayrılması, santrifüjleme yöntemiyle (Najgebauer-Lejko ve ark., 2014) depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde belirlenmiştir. Bu amaçla 50 mL'lik falkonlara yaklaşık olarak 10'ar g yoğurt örnekleri tartılmış ve soğutmalı bir santrifüj cihazında (Nuve NF 800R, Türkiye) 10 dakika süreyle santrifüjleme işlemi (800g, 4°C,) uygulanmıştır. İşlem sonucunda üstte biriken sıvı faz tartılarak, serum ayrılması toplam örnek ağırlığı üzerinden yüzde olarak verilmiştir.

3.2.10.4 Radikal Süpürücü Yöntemlerle Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Yoğurt örneklerinin ekstraksiyonu, bazı değişiklikler yapılarak, Öztürk ve ark., (2018)'nin bildirdiği şekilde yapılmıştır. Bu amaçla, 50 mL'lik falkon tüplere yoğurt örneklerinden 5'er g tartılarak, üzerlerine 25 mL %96'lık asitleştirilmiş (%0.1 HCl) metanol solüsyonu ilave edilmiş ve falkon tüplerinin ağızları kapalı şekilde ultrasonik su banyosunda yaklaşık 40°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, tüpler 4°C'de 10 dakika süreyle 7200 rpm'de santrifüj işlemine (Nüve NF 800R, Türkiye) tabi tutulmuş ve elde edilen süpernatantlar, Whatman No.1 ile süzülmüştür. Yoğurt ekstraktlarında antioksidan aktivite, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Brand-Williams ve ark., 1995) ve ABTS (2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) (Re ve ark., 1999) radikal süpürücü yöntemlerle belirlenmiştir. Kısaca, cam tüpler içine ekstraktlardan 250'şer µL alınmış ve üzerlerine 3 mL DPPH çözeltisi konularak, tüpler 37°C'de 10 dakika süreyle bekletildikten sonra spektrofotometrede (PerkinElmer, Lambda 35, ABD) 517 nm dalga boyunda solvente (%96'lık asitleştirilmiş metanol) karşı okuma yapılmıştır. ABTS serbest radikal süpürücü aktivite için ise, ekstraktlardan 100'er µL alınarak üzerlerine 2.4 mL, 0.70 nm'ye ayarlanmış, ABTS çözeltisi ilave edilmiş ve 10 dakika süreyle karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Süre sonunda 734 nm'de okuma yapılmıştır. Sonuçlar, Troloks absorbans-konsantrasyon standart eğrisine göre hesaplanarak, 1 g numune başına mg/L Troloks eş değeri olarak verilmiştir (Sahingil ve Hayaloglu, 2022).

3.2.10.5 Tekstür Profil Analizi

Yoğurt örneklerinde depolamanın 1., 10. ve 20. günlerinde sertlik, kıvam, yapışkanlık ve viskozite indeks değerleri, Brennan ve Tudorica (2008)'nin kullandığı yöntem modifiye edilerek, Texture Analyzer (TA-TX Plus, İngiltere) cihazı ile ölçülmüştür. Analiz koşullarından ön test hızı 1 mm/s, test hızı 1 mm/s, test sonrası hız 10 mm/s, mesafe 15 mm ve tetikleme kuvveti 10 g seçilmiş ve ölçümler, uç kısmında 35 mm çapında disk bulunduran back ekstrüzyon (A/BE) aparatı ile yapılmıştır.

3.2.10.6 Duyusal Değerlendirme

Yoğurt örneklerinin duyusal kabul edilebilirlik testleri, 1-10 puanlık hedonik skala (1: çok kötü; 10: fevkalade) kullanılarak, eğitilmiş 10 kişilik bir panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir (Shori ve Baba, 2012). Panelistler, aşağıdaki forma göre (Şekil 3.9) depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde yoğurt örneklerinin görünüş-renk, yapı-kıvam, lezzet ve genel kabul edilebilirliklerini değerlendirmişlerdir.

DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU							
Panelistin Ad-Soyadı:				Tarih:			
Nanoliflerin yoğurda ilavesinin, yoğurdun duyusal özelliklerine etkisini ortaya çıkarmak amacıyla bu duyusal test yapılmaktadır.							
Değerlendirmelerinizi 1-10 arasında puanlar (1: çok kötü; 10: fevkalade) vererek yapınız.							
Örnekler arasındaki geçişlerde ağzınızı su ile çalkalayınız.							
Değerli vaktinizi ayırdığınızdan dolayı teşekkür ederim.							
Duyusal özellikler	Örnek kodları						
Görünüş-renk							
Yapı-kıvam							
Lezzet							
Genel kabul edilebilirlik							

Şekil 3.9 Duyusal Değerlendirme Formu

3.2.11 İstatistiksel Analizler

Zeta potansiyeli 3 ve diğer analizler 2 tekerrürlü ve her bir tekerrür 2 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Analizlerden elde edilen veriler, Origin Pro 2023b istatistik programı (OriginLab Corporation, Northampton, MA, ABD) kullanılarak, varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar Tukey testi ile belirlenmiştir (Zhao ve ark., 2012). Deneme yoğurt örneklerine ait duyusal değerlendirme puanlarının istatistiksel analizleri, karekök transformasyonu uygulandıktan sonra yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Süpernatantlarda Yapılan Analizlerin Bulguları

Kivi ve portakal posası tozlarından elde edilen ve suda çözünür fraksiyonları içeren süpernatantlarda (sulu ekstrakt) (sırasıyla KÇF ve PÇF) yapılan pH, suda çözünür kurumadde, şeker, kül ve çözünür diyet lif (ÇDL) analizlerinin sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Bu verilere göre KÇF’nin toplam mineral madde içeriğinin daha yüksek; PÇF’nin ise suda çözünür kurumadde (SÇKM), şeker, ÇDL ve pH değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca literatüre göre PÇF’nin pektin içeriğinin daha yüksek olduğu söylenebilir (Martin-Cabrejas ve ark., 1995; Macagnan ve ark., 2015).

Çizelge 4.1 Süpernatantların Bileşiminde Bulunan Önemli Maddelerin Oranları (%) ve pH Değerleri

Bileşim	KÇF	PÇF
SÇKM (%)	2.60 ± 0.14	2.80 ± 0.28
Kül (%)	0.32 ± 0.02	0.16 ± 0.01
Fruktoz (%)	0.67 ± 0.03	0.59 ± 0.02
Glukoz (%)	0.49 ± 0.03	0.52 ± 0.01
Sakkaroz (%)	TED	0.61 ± 0.04
Toplam şeker (%)	1.16 ± 0.03	1.72 ± 0.04
ÇDL (%)	0.66 ± 0.03	0.71 ± 0.01
pH	6.53 ± 0.02	6.61 ± 0.01

SÇKM; suda çözünür kurumadde, ÇDL; çözünür diyet lif, TED; tespit edilemeyen düzeyde, KÇF; kivi posası suda çözünür fraksiyonları (sulu ekstrakt), PÇF; portakal posası suda çözünür fraksiyonları.

4.2 Polimer Çözeltilerinde Yapılan Analizlerle İlgili Bulgular

Nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin fiziksel özellikleri, nanolif morfolojisi üzerinde önemli etkilere sahiptir (Wang ve ark., 2019). Dolayısıyla bu çalışmada nanolif üretiminde kullanılan çözeltilerin bazı fiziksel özellikleri tespit edilmiş ve bunlara ait ortalama değerler arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemi ve bu değerlerin literatürle karşılaştırılması aşağıda verilmiştir.

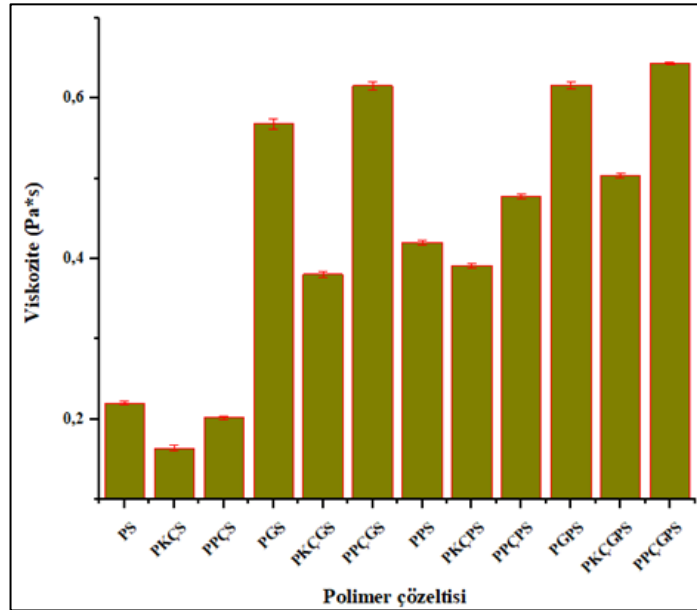
4.2.1 Viskozite

Pullulan polimer çözeltisine (PS, 0.220), KÇF (kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları) ayrı ayrı eklendiklerinde, KÇF’nin etkisi daha fazla olmak üzere, oluşan çözeltilerde (PKÇS ve PPÇS için sırasıyla 0.164 ve 0.202) viskozitenin önemli derecede düştüğü görülmektedir (Çizelge 4.2, Şekil 4.1, P<0.05).

Çizelge 4.2 Nanolif üretiminde kullanılan Çözeltilerin Viskozite Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Çözelti	Viskozite (Pa.s)
PS	0.220 ± 0.002 ^H
PKÇS	0.164 ± 0.004 ^J
PPÇS	0.202 ± 0.002 ^I
PGS	0.569 ± 0.006 ^C
PKÇGS	0.381 ± 0.004 ^G
PPÇGS	0.616 ± 0.005 ^B
PPS	0.420 ± 0.002 ^F
PKÇPS	0.391 ± 0.003 ^G
PPÇPS	0.478 ± 0.003 ^E
PGPS	0.616 ± 0.004 ^B
PKÇGPS	0.504 ± 0.003 ^D
PPÇGPS	0.644 ± 0.001 ^A

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-J}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). PS; pullulan, PKÇS; pullulan/KÇF, PPÇS; pullulan/PÇF, PGS; pullulan/gliserol, PKÇGS; pullulan/KÇF/gliserol, PPÇGS; pullulan/PÇF/gliserol, PPS; pullula/*L. acidophilus*, PKÇPS; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPS; pullulan/PÇF/*L. acidophilus*, PGPS; pullulan/gliserol/*L. acidophilus*, PKÇGPS; pullulan/KÇF/gliserol/*L. acidophilus*, PPÇGPS; pullulan/PÇF/gliserol/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan çözeltilerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin çözeltilerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir. Gliserol içeren çözeltilerde gliserol oranı %3'tür.



Şekil 4.1 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Viskozite Ortalama Değerleri

KÇF ve PÇF ilaveli polimer çözeltileri (sırasıyla PKÇS ve PPÇS) hazırlanırken çözeltilerin kurumadde oranlarının %95'ini pullulan ve %5'ini KÇF ve PÇF'den gelen kurumadde oranları oluşturacak şekilde ayarlama yapılmıştır. KÇF ve PÇF içinde önemli derecede kıvam artırma özelliğine sahip pektinin yanı sıra kıvam

üzerinde daha az etkili şeker ve mineraller gibi maddeler de bulunmaktadır. Dolayısıyla, KÇF ve PÇF ilaveli çözeltilerde viskozitenin daha düşük çıkması, pullulan çözeltilerinde kurumaddenin tamamının kıvam artırıcı özelliği yüksek pullulandan oluşması, KÇF/PÇF ilaveli çözeltilerde ise pullulan ve pektin gibi kıvam artırıcı maddelerin yanı sıra kıvam üzerinde daha düşük etkilere sahip maddelerin de bulunmasından kaynaklanmış olabilir. PÇF ilaveli çözeltide (PPÇS) viskozitenin KÇF ilaveli çözeltiden (PKÇS) yüksek olması ise, PÇF’de pektin oranının daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir (Macagnan ve ark., 2015; Martin-Cabrejas ve ark., 1995). PS, PKÇS ve PPÇS çözeltilerine gliserol (G), probiyotik *L. acidophilus* hücreleri (P) ve gliserol+probiyotik hücreler (G+P) ayrı ayrı eklendiklerinde ise, oluşan çözeltilerde viskozitenin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$, Çizelge 4.2). Gliserol ve/veya probiyotik hücrelerin ilavesiyle çözeltilerde viskozitenin yükselmesinin sebebi, gliserolün (0.706 Pa.s) eklendiği bu çözeltilerden daha yüksek viskozite değerine sahip olması (Singh ve ark., 2018) ve hücrelerin, çözeltilerdeki kurumadde oranını arttırmalarıyla ilgili olabilir. Pop ve ark., (2015) probiyotik hücreleri mikrokapsüle ettikleri çalışmalarında; Yuyu ve ark., (2022) ise gıda ambalajı olarak pH’ya duyarlı biyo-kompozit film ürettikleri çalışmalarında polimer çözeltilerine eklenen gliserol oranı arttıkça, bu çalışmada olduğu gibi, çözeltilerde viskozite değerinin arttığını bildirmişlerdir. Simonič ve ark., (2023) çalışmalarında probiyotik hücre ilavesiyle polimer çözeltilerinde viskozite değerlerinin önemli derecede arttığı bildirilmiştir. Pektin içeriği daha yüksek PÇF (Macagnan ve ark., 2015; Martin-Cabrejas ve ark., 1995) ile gliserol ve/veya probiyotik hücreleri birlikte içeren çözeltilerde (PPÇGS, PPÇPS ve PPÇGPS) viskozitenin daha yüksek çıkması, gliserol ile pektin arasındaki interaksiyonlardan kaynaklanmış olabilir veya gliserol, pektin-pullulan arasındaki moleküler dolaşıklığı artırmış olabilir. Bu durumu desteklediği düşünülen bir çalışmada, Liu ve ark., (2016) yüksek konsantrasyon değerlerinde, pektin çözeltilerinin, pullulan çözeltilerinden daha viskoz olduğunu bununla birlikte düşük konsantrasyonlarda bu durumun gözlemlenmediğini ve pektin/pullulan karışımından oluşan çözeltilerin viskozite değerinin, bu iki polisakkarit arasındaki moleküler dolaşıklıkla ilgili olarak, iki bileşiğin ayrı ayrı çözeltilerinin viskozite değerlerinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Probiyotik hücrelerin etkisinin ise, çözelti ortamında kurumadde artışına bağlı olarak

su aktivitesinin düşmesi ve bunun sonucunda pektinin daha fazla jelleşmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

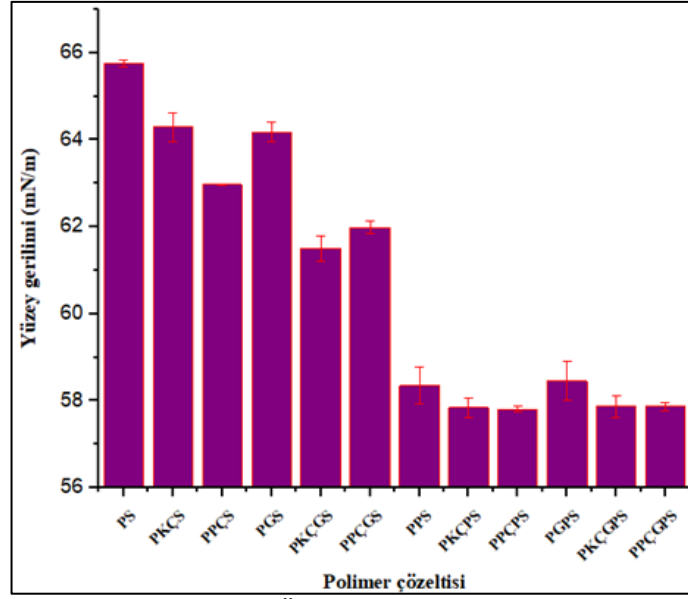
4.2.2 Yüzey gerilimi

Pullulan polimer çözeltisine (PS, 65.75), KÇF ve PÇF, ayrı ayrı eklendiklerinde, PÇF'nin etkisi daha fazla olmak üzere, oluşan çözeltilerde (PKÇS ve PPÇS için sırasıyla 64.29 ve 62.97) yüzey geriliminin önemli derecede düştüğü görülmektedir (Çizelge 4.3, Şekil 4.2, $P<0.05$). Najafi ve ark., (2022) çalışmalarında da pullulan çözeltisine pektin ilave edilince oluşan çözeltide yüzey geriliminin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çözeltilere gliserol ve/veya probiyotik hücreler ilave edildiğinde oluşan çözeltilerde yüzey geriliminin önemli derecede daha düşük olduğu da görülmektedir ($P<0.05$). Takamura ve ark., (2012) çalışmalarında gliserolün (%99.5 saflıkta), 20 ve 30°C sıcaklıklarda yüzey geriliminin sırasıyla 63.4 ve 62.8 olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.3 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Yüzey Gerilimi Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Çözelti	Yüzey gerilimi (mN/m)
PS	65.75 ± 0.08 ^A
PKÇS	64.29 ± 0.33 ^B
PPÇS	62.97 ± 0.01 ^C
PGS	64.18 ± 0.23 ^B
PKÇGS	61.50 ± 0.28 ^D
PPÇGS	61.98 ± 0.14 ^{CD}
PPS	58.35 ± 0.42 ^E
PKÇPS	57.83 ± 0.23 ^E
PPÇPS	57.80 ± 0.07 ^E
PGPS	58.45 ± 0.45 ^E
PKÇGPS	57.87 ± 0.25 ^E
PPÇGPS	57.86 ± 0.09 ^E

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P<0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-J}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P>0.05$). PS; pullulan, PKÇS; pullulan/KÇF, PPÇS; pullulan/PÇF, PGS; pullulan/gliserol, PKÇGS; pullulan/KÇF/gliserol, PPÇGS; pullulan/PÇF/gliserol, PPS; pullulan/*L. acidophilus*, PKÇPS; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPS; pullulan/PÇF/*L. acidophilus* PGPS; pullulan/gliserol/*L. acidophilus*, PKÇGPS; pullulan/KÇF/gliserol/*L. acidophilus*, PPÇGPS; pullulan/PÇF/gliserol/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan çözeltilerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin çözeltilerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir. Gliserol içeren çözeltilerde gliserol oranı %3'tür.



Şekil 4.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Yüzey Gerilimi Ortalama Değerleri

Dolayısıyla gliserolün, ilave edildiği çözeltilerde yüzey gerilimini düşürmesinin sebebi, genel olarak bu çözeltilerin yüzey geriliminden daha düşük yüzey gerilimine sahip olmasından kaynaklanmış olabilir. Yüzey gerilimi değerleri bu çalışmayla benzer olan Simonič ve ark., (2023) çalışmalarında da sodyum aljinat/PEO çözeltisinin yüzey geriliminin (59.6) *Lactobacillus paragasseri* probiyotik hücrelerinin eklenmesiyle, bu çalışmada olduğu gibi azaldığı (56.9) görülmektedir. Probiyotik (PPS, PKÇPS ve PPÇPS) ve probiyotik ile birlikte gliserol (PGPS, PKÇGPS ve PPÇGPS) ilaveli çözeltiler arasında ise, yüzey gerilimi değerleri açısından, önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Lopez-Polo ve ark., (2020) çalışmalarında, buna benzer olarak, gliserol ilavesinin polimer çözeltilerinin yüzey gerilimini değiştirmedeğini ve bunun, gliserolün bir yüzey aktif madde olmamasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Ayrıca Jia ve ark., (2020), Devaraju ve ark., (2021) ve Liang ve Gao (2023), çalışmalarında kullandıkları, farklı konsantrasyonlardaki pullulan çözeltilerinin yüzey gerilimlerinin (sırasıyla, 63.78, 67.18 ve 66.86), bu çalışmada kullanılan pullulan çözeltisinin yüzey gerilimine (65.75) yakın değerler olduğu görülmektedir.

4.2.3 İletkenlik

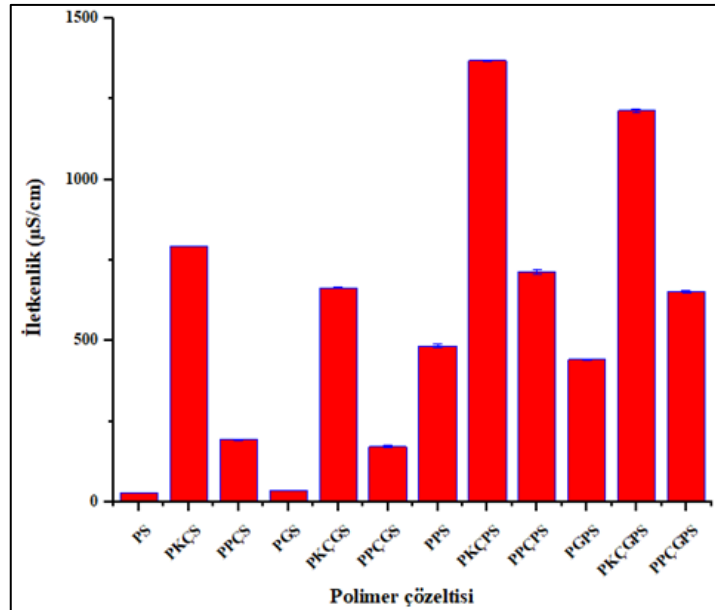
Pullulan polimer çözeltisine (PS, 29.8), KÇF ve PÇF ayrı ayrı eklendiklerinde, KÇF'nin etkisi daha fazla olmak üzere, oluşan çözeltilerde (PKÇS

ve PPÇS için sırasıyla 792.5 ve 193.5) iletkenliğin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.3, $P < 0.05$).

Çizelge 4.4 Nanolif üretiminde kullanılan Çözeltilerin İletkenlik Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Çözelti	İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
PS	29.8 ± 0.3^J
PKÇS	792.5 ± 0.7^C
PPÇS	193.5 ± 2.1^H
PGS	34.6 ± 0.6^J
PKÇGS	664.5 ± 0.7^E
PPÇGS	172.0 ± 4.2^I
PPS	484.0 ± 5.7^F
PKÇPS	1368.5 ± 3.5^A
PPÇPS	715.0 ± 7.1^D
PGPS	442.0 ± 2.8^G
PKÇGPS	1213.5 ± 4.9^B
PPÇGPS	652.0 ± 4.2^E

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (A^J). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). PS; pullulan, PKÇS; pullulan/KÇF, PPÇS; pullulan/PÇF, PGS; pullulan/gliseroL, PKÇGS; pullulan/KÇF/gliseroL, PPÇGS; pullulan/PÇF/gliseroL, PPS; pullula/*L. acidophilus*, PKÇPS; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPS; pullulan/PÇF/*L. acidophilus* PGPS; pullulan/gliseroL/*L. acidophilus*, PKÇGPS; pullulan/KÇF/gliseroL/*L. acidophilus*, PPÇGPS; pullulan/PÇF/gliseroL/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan çözeltilerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin çözeltilerdeki oranları kurumda üzerinden %5'tir. GliseroL içeren çözeltilerde gliseroL oranı %3'tür.



Şekil 4.3 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin İletkenlik Ortalama Değerleri

Liu ve ark., (2016) çalışmalarında pullulan çözeltisinin iletkenlik değerinin, pektin çözeltisine göre daha düşük olduğunu bildirmeleri, bu sonucu

doğrulamaktadır. Ayrıca şekerin (Marzougui ve ark., 2008) ve mineral maddelerin (Abid ve ark., 2014), iletkenliği arttırdığı bilinmektedir. Dolayısıyla bu çözeltilerde iletkenliğin artmış olmasının bir sebebi de KÇF ve PÇF'nin belli konsantrasyonlarda şeker ve mineral madde içeriğine sahip olmaları olabilir (Çizelge 4.1). PS çözeltilisine gliserol eklendiğinde önemli olmamakla birlikte iletkenlik artmış (PGS, 34.6) ve PKÇS ile PPÇS çözeltilerine gliserol ilave edildiğinde ise, oluşan karışımlarda (PKÇGS ve PPÇGS için sırasıyla, 664.5 ve 172) iletkenlik önemli derecede azalmıştır ($P<0.05$). Bu durum gliserolün, pullulan çözeltilisinden (PS) daha iletken olduğunu ve diğer bileşiklerden daha az bir iletkenliğe sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca probiyotik hücre ilavesiyle oluşan karışımlarda (PPS, PKÇPS, PPÇPS, PGPS, PKÇGPS ve PPÇGPS) iletkenliğin önemli derecede arttığı görülmektedir ($P<0.05$).

Diep ve Schiffman (2021) ve Simonič ve ark., (2023) çalışmalarında da, bu çalışmada olduğu gibi, polimer çözeltilerinde probiyotik hücre ilavesiyle iletkenliğin önemli derecede arttığı görülmüştür. Bu durumun, probiyotiklerden gelen hücre dışı iyonlardan veya probiyotik hücrelerin içinde bulunduğu kültür ortamının, santrifüjlenmesinden sonra, probiyotik hücrelerle birlikte kalan kalıntılardan kaynaklanmış olabileceği bildirilmektedir (Škrlec ve ark., 2019).

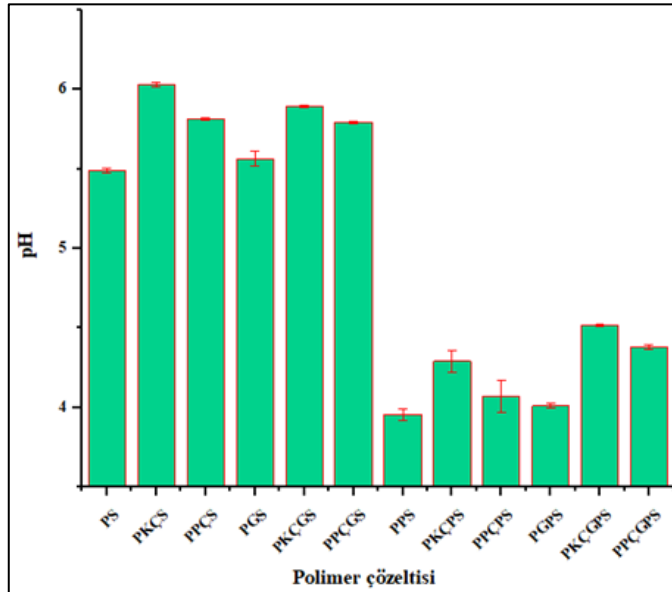
4.2.4 pH

Pullulan polimer çözeltilisine (PS, 5.49), pH değerleri daha yüksek olan KÇF (6.53) ve PÇF (6.6), ayrı ayrı eklendiklerinde, beklendiği şekilde oluşan çözeltilerde (PKÇS ve PPÇS için sırasıyla 6.03 ve 5.81) pH'nın önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.4, $P<0.05$). Bu çözeltilere gliserol ilave edildiğinde ise, oluşan çözeltilerde, PKÇGS dışında, pH açısından önemli bir farklılık oluşmadığı görülmektedir. Bu durum, gliserolün sulu çözeltilisinin pH değerinin, bu çözeltilerin pH değerlerine yakın olduğunu göstermektedir. Probiyotik hücreler eklendiğinde ise, oluşan çözeltilerde pH değerlerinin genel olarak, önemli derecede daha düşük olduğu da görülmektedir ($P<0.05$). Ma ve ark., (2023) çalışmalarında da probiyotik hücre ilave edilen polimer çözeltilerinde pH'nın düştüğü görülmektedir. Probiyotik ilavesiyle pH'nın düşmesi, santrifüjleme işleminde probiyotik hücrelerden tam olarak

Çizelge 4.5 Nanolif üretiminde Kullanılan Çözeltilerin pH Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Çözelti	pH
PS	5.49 ± 0.02 ^C
PKÇS	6.03 ± 0.02 ^A
PPÇS	5.81 ± 0.01 ^B
PGS	5.56 ± 0.05 ^C
PKÇGS	5.89 ± 0.01 ^{AB}
PPÇGS	5.79 ± 0.01 ^B
PPS	3.95 ± 0.03 ^F
PKÇPS	4.29 ± 0.07 ^E
PPÇPS	4.07 ± 0.10 ^F
PGPS	4.01 ± 0.02 ^F
PKÇGPS	4.51 ± 0.01 ^D
PPÇGPS	4.38 ± 0.01 ^{DE}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-J}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). PS; pullulan, PKÇS; pullulan/KÇF, PPÇS; pullulan/PÇF, PGS; pullulan/gliserol, PKÇGS; pullulan/KÇF/gliserol, PPÇGS; pullulan/PÇF/gliserol, PPS; pullula/*L. acidophilus*, PKÇPS; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPS; pullulan/PÇF/*L. acidophilus* PGPS; pullulan/gliserol/*L. acidophilus*, PKÇGPS; pullulan/KÇF/gliserol/*L. acidophilus*, PPÇGPS; pullulan/PÇF/gliserol/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan çözeltilerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin çözeltilerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir. Gliserol içeren çözeltilerde gliserol oranı %3'tür.



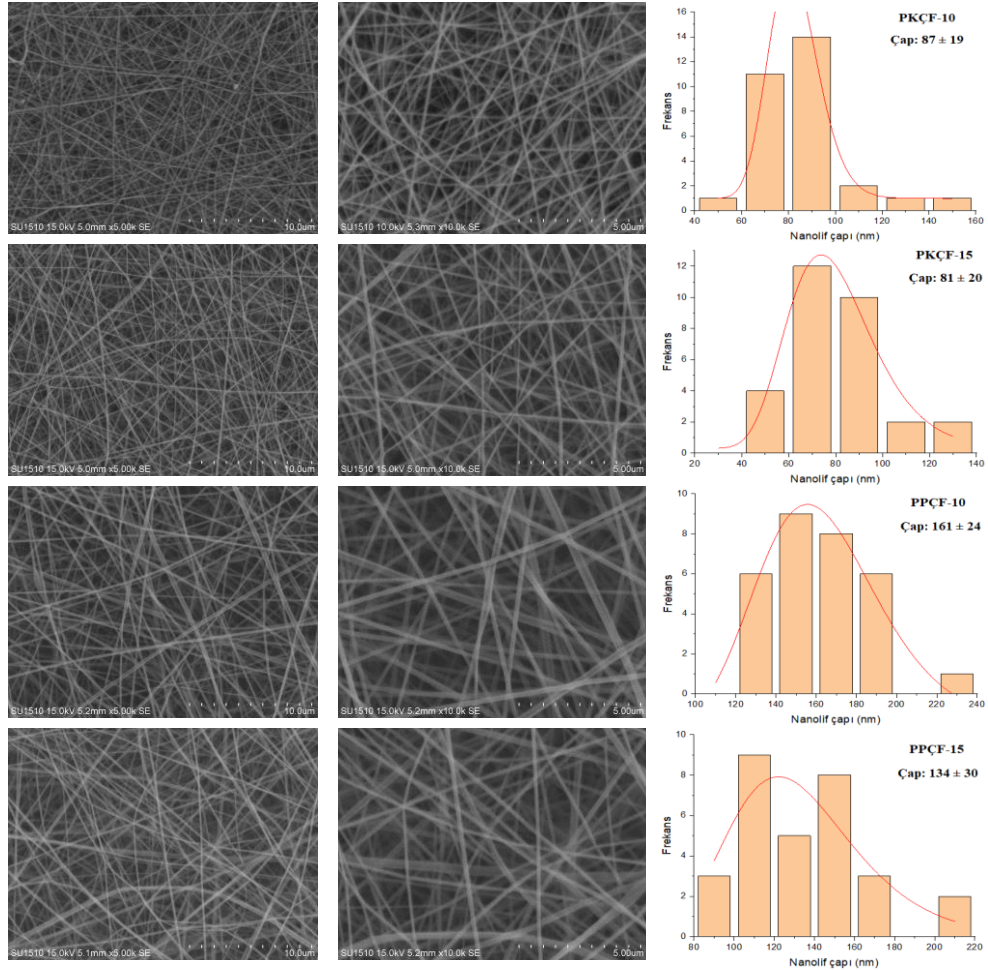
Şekil 4.4 Nanolif Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin pH Ortalama Değerleri

uzaklaştırılmayan, yüksek miktarda laktik asit içeriğine sahip, kültür ortamının kalıntılarında kaynaklanmış olabilir.

4.3 Nanoliflerde Yapılan Analizlerin Bulguları

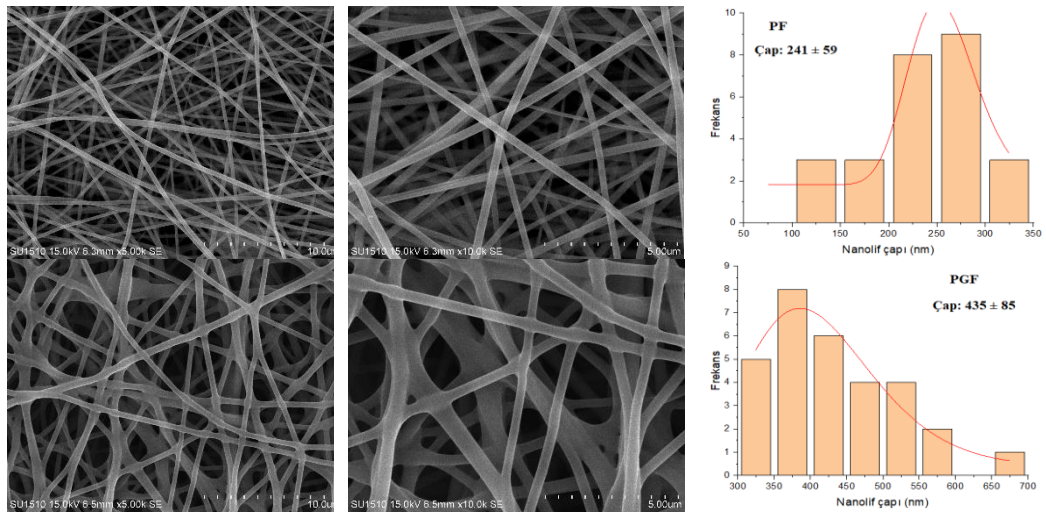
4.3.1 Nanoliflerin Morfolojileri ve Çap Uzunlukları

Elektrospınlenemeyen maddelerden çeşitli amaçlarla nanolifler üretilirken, elektrospınlenebilen maddelerden yararlanılır ve bunlara yardımcı madde denilmektedir. Bu çalışmada da pullulan doğal polimeri yardımcı madde olarak seçilmiş ve bazı meyve endüstriyel atıklarından (portakal ve kivi posaları), önemli miktarlarda çözünür diyet lif (ÇDL) içeren suda çözünür fraksiyonlar (KÇF ve PÇF) ekstrakte edilerek, nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin içerdikleri suda çözünür kurumaddenin %5, 10 ve 15'ini bu fraksiyonlardan gelen kurumaddeler oluşturacak şekilde, pullulan/KÇF ve Pullulan/PÇF polimer çözeltileri hazırlanmıştır. SEM görüntüleri, tüm polimer çözeltilerinin başarılı bir şekilde nanoliflere dönüştürüldüğünü göstermektedir.

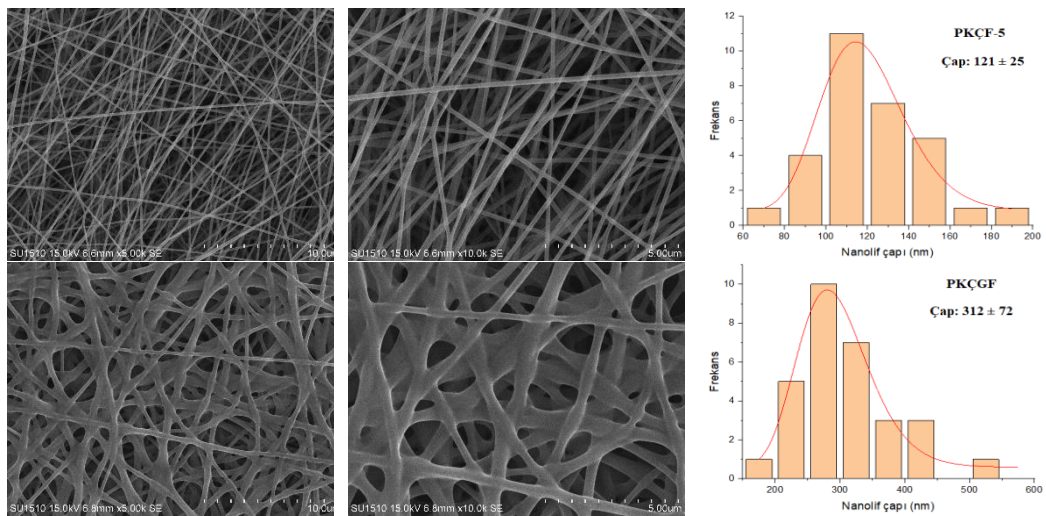


Şekil 4.5 %90 Pullulan-%10 KÇF (PKÇF-10), %85 Pullulan-%15 KÇF (PKÇF-15), %90 Pullulan-%10 PÇF (PPÇF-10) ve %85 Pullulan-%15 PÇF (PPÇF-15) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden)

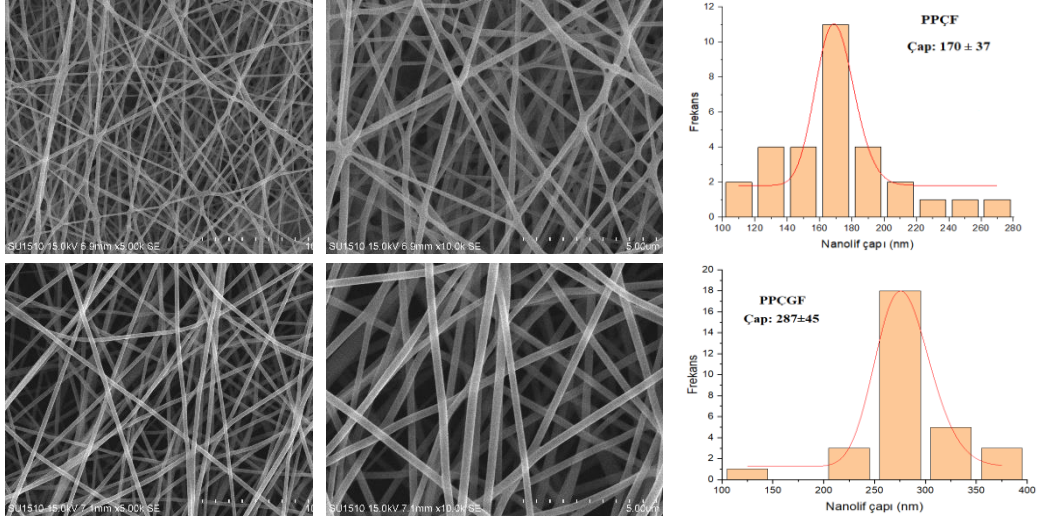
Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8'deki SEM görüntülerine bakıldığında gliserol ve/veya probiyotik hücre içermeyen PKÇF-10, PKÇF-15, PPÇF-10, PPÇF-15, PF, PKÇF ve PPÇF nanolif ağlarının, genel olarak daha homojen, düzgün, pürüzsüz ve kusursuz bir morfolojiye sahip oldukları görülmektedir. Gliserol ilaveli çözeltilerden elde edilen nanolifler incelendiğinde; PPÇGF dışında, düzgün olmayan, pürüzlü ve kısmen boncuklu yapılara sahip oldukları görülmektedir. Bu durum, PGF ve PKÇGF örneklerinde gliserolün lif içine yüksek miktarlarda enkapsüle bir şekilde yerleşmesinden ve PPÇGF nanoliflerinde ise enkapsüle olan veya yapıda tutulan gliserol miktarının düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.



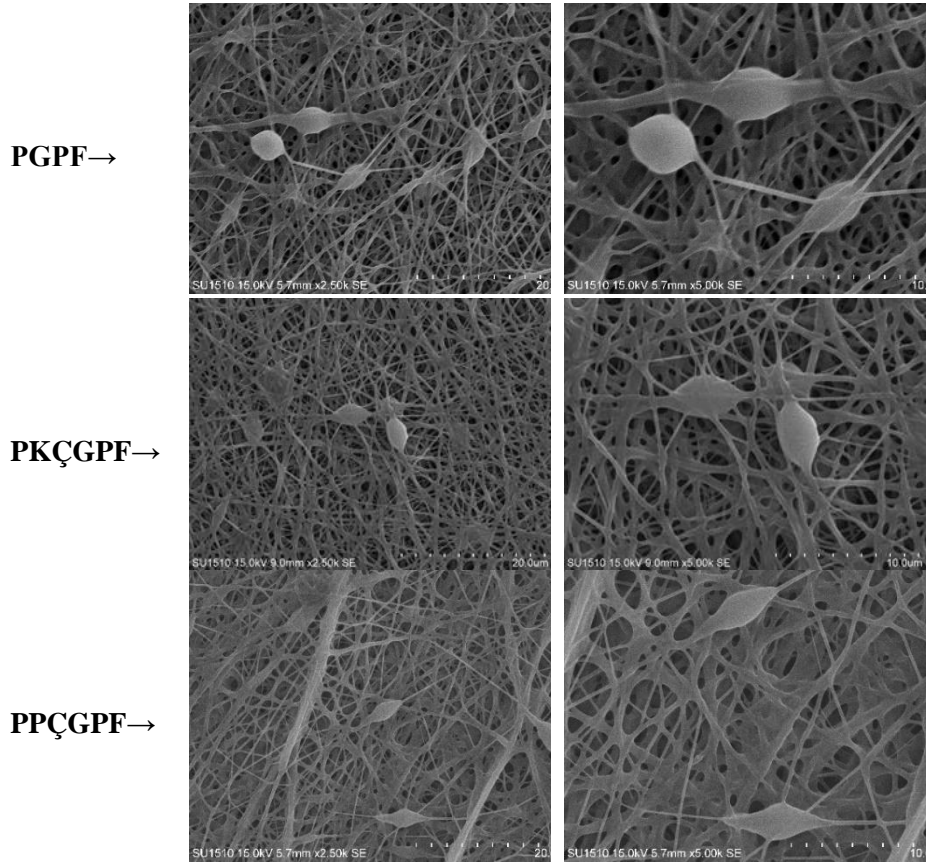
Şekil 4.6 %100 Pullulan (PF) ve %100 Pullulan-Gliserol (PGF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden)



Şekil 4.7 %95 Pullulan-%5 KÇF (PKÇF) ve %95 Pullulan-%5 KÇF-Gliserol (PKÇGF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden)

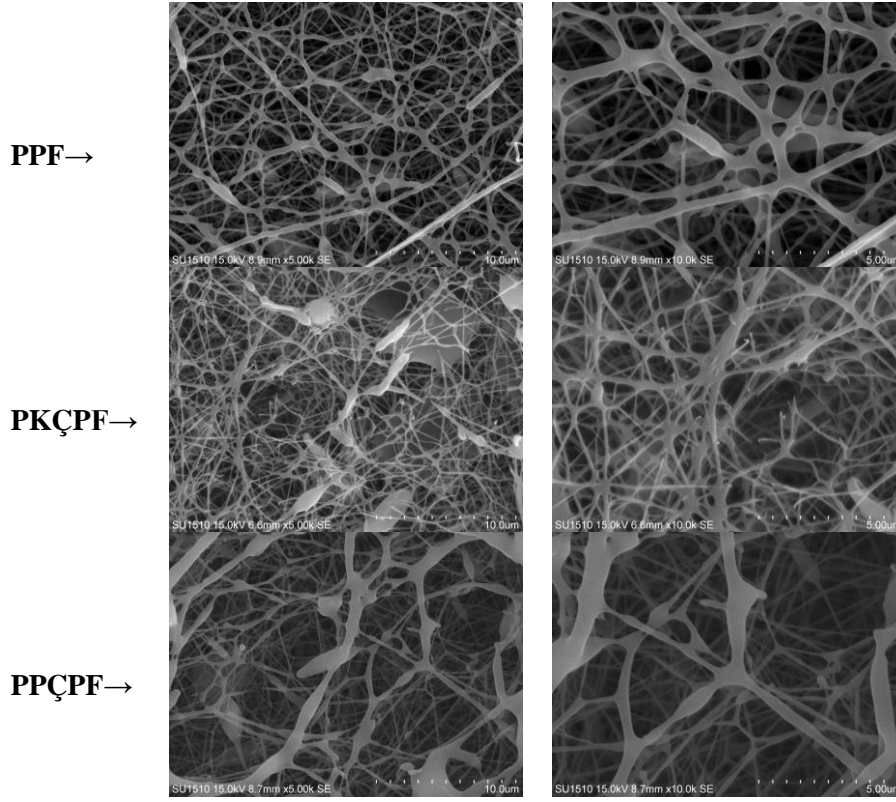


Şekil 4.8 %95 Pullulan-%5 PÇF (PPÇF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF-Gliserol (PPÇGF) İçeren Nanoliflerinin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden)



Şekil 4.9 %100 Pullulan-Gliserol-*L. acidophilus* (PGPF), %95 Pullulan-%5 KÇF-Gliserol-*L. acidophilus* (PKÇGPF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF-Gliserol-*L. acidophilus* (PPÇGPF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden Yaklaşık Değerlerdir)

Gliserol/probiyotik (Şekil 4.9) ve probiyotik (Şekil 4.10) içeren nanoliflerde de düzgün olmayan ve boncuklu yapıların oluştuğu tespit edilmiştir. Boncuklu yapıların oluşması, gliserol ve probiyotik içeren çözeltilerde viskozitenin yüksek olması (Xu ve ark., 2022b) ve gliserol ile probiyotiklerin yapı malzemeleri olmayıp, nanoliflerin içine enkapsüle bir şekilde yerleşmelerinden kaynaklanmış olabilir.



Şekil 4.10 %100 Pullulan-*L. acidophilus* (PPF), %95 Pullulan-%5 KÇF-*L. acidophilus* (PKÇPF) ve %95 Pullulan-%5 PÇF-*L. acidophilus* (PPÇPF) İçeren Nanoliflerin SEM Görüntüleri (Oranlar Kurumadde Üzerinden Yaklaşık Değerlerdir)

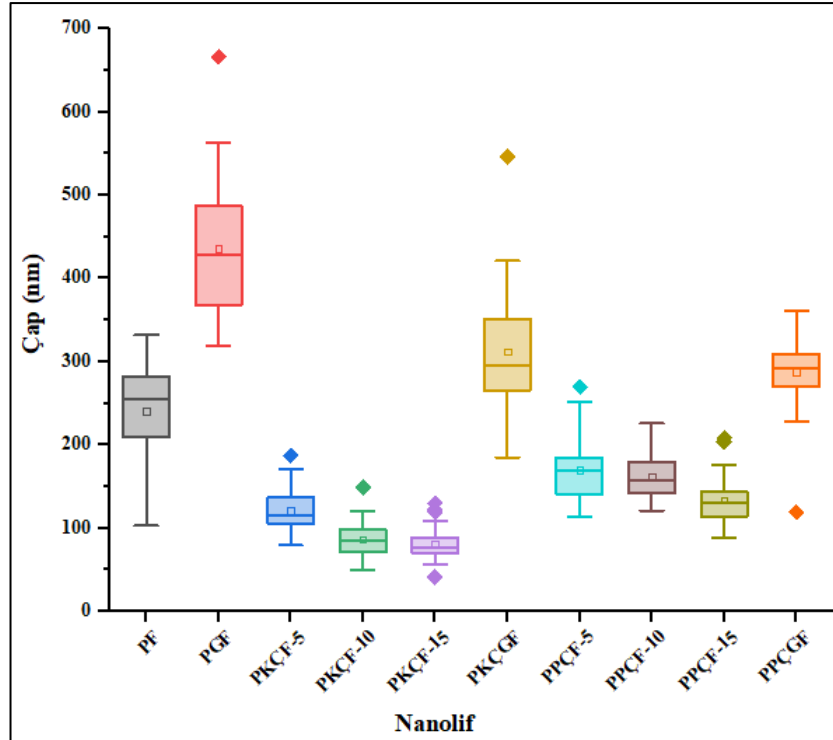
Çalışmada polimer çözeltilerinden üretilen nanoliflerin çapları incelendiğinde; KÇF/PÇF ilaveli nanoliflerin (81-170 nm), sadece pullulan (241 nm) içeren nanoliflere göre, ortalama çaplarının daha küçük olduğu ve KÇF/PÇF oranları arttıkça, oluşan nanoliflerin ortalama çap uzunluklarının genel olarak önemli derecede azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.6, Şekil 4.11, $P < 0.05$). Ayrıca bu çalışmada gliserol katkılı nanoliflerin üretiminde ve probiyotik *L. acidophilus* hücrelerinin nanoliflerle enkapsülasyonunda, elektrospinnenebilirliği daha kolay olduğu için çözünür kurumadde olarak, %100 pullulan (P), %5KÇF-%95P ve %5PÇF-%95P içeren polimer çözeltileri kullanılmış ve gliserol (Çizelge 4.6), *L. acidophilus* (Şekil

4.10) ve gliserol/*L. acidophilus* (Şekil 4.9) içeren nanoliflerin ortalama çaplarının önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.6 Farklı Oranlarda KÇF/PÇF İçeren Nanoliflerin Ortalama Çap Uzunlukları

Nanolif	Çap (nm)
PF	241 ± 59 ^C
PGF	435 ± 85 ^A
PKÇF-5	121 ± 25 ^{EF}
PKÇF-10	87 ± 19 ^{FG}
PKÇF-15	81 ± 20 ^G
PKÇGF	312 ± 72 ^B
PPÇF-5	170 ± 37 ^D
PPÇF-10	161 ± 24 ^D
PPÇF-15	134 ± 30 ^{DE}
PPÇGF	287 ± 45 ^B

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-D}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). PF; pullulan, PGF; pullulan/gliserol, PKÇF-5; pullulan/%5 KÇF, PKÇF-10; pullulan/%10 KÇF, PKÇF-15; pullulan/%15 KÇF, PKÇGF; pullulan/%5 KÇF/gliserol, PPÇF-5; pullulan/%5 PÇF, PPÇF-10; pullulan/%10 PÇF, PPÇF-15; pullulan/%15 PÇF, PPÇGF; pullulan/%5 PÇF/gliserol bileşimlerinden oluşan nanoliflerin kodları. KÇF ve PÇF; sırasıyla kivi ve portakal posası suda çözünür fraksiyonları.



Şekil 4.11 Farklı Oranlarda KÇF/PÇF İçeren Nanoliflerin Ortalama Çap Uzunlukları

Elektrospinning çözeltilerinin viskozitesi ve iletkenliği, liflerin morfolojisini ve boyutunu etkileyen ana unsurlar olarak kabul edilmektedir (Celebioglu ve Uyar,

2021). Çözelti viskozitesi ile üretilen liflerin çaplarının doğru orantılı olduğu (Beachley ve Wen, 2009; Zare ve ark., 2021), iletkenliğinin artmasıyla nanolif çaplarında önemli ölçüde azalma meydana geldiği (Bhardwaj ve Kundu, 2010) ve yüzey geriliminin yüksek olmasının, nanolif oluşumunu zorlaştırdığı (De Vrieze ve ark., 2009) bildirilmektedir. Ayrıca pH'nın iletkenliği etkilediği ve alkali çözeltilerden üretilen liflerin, iletkenliğin daha yüksek olmasına bağlı olarak, asidik polimer çözeltilisine kıyasla daha küçük çaplara sahip oldukları bildirilmektedir (Vega-Lugo ve Lim, 2012). Bunların dışında elektrospun nanoliflerinin morfolojisi, voltaj, iğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe, polimer konsantrasyonu, çözelti besleme hızı gibi faktörlerden de etkilenmektedir (Karim ve ark., 2009); ancak çalışmamızda bu parametreler sabit tutulmuştur. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmada KÇF veya PÇF ilaveli çözeltilerden üretilen nanoliflerde ortalama çapların küçülmesinin sebebi, bunların ilavesiyle hazırlanan polimer çözeltilerinin, sadece pullulan içeren çözeltiye göre, viskozite ve yüzey gerilimlerinin daha düşük olması ve iletkenlik ile pH değerlerinin ise, önemli derecede daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir.

Ma ve ark., (2021) gam Arabik/pullulan bazlı nanoliflerle probiyotikleri enkapsüle ettikleri çalışmalarında, bu çalışmaya benzer olarak, gam ilavesiyle çözeltilerde iletkenliğin arttığını ve viskozite ile yüzey geriliminin düştüğünü ve bunlara bağlı olarak nanolif çaplarının da küçüldüğünü bildirmişlerdir. Xu ve ark., (2022b) çalışmalarında da PVA çözeltilisine pektin ilavesiyle viskozite ve iletkenliğin önemli derecede arttığı bununla birlikte iletkenliğin baskın etkisinden dolayı oluşan liflerin daha ince boyutlarda oldukları bildirilmiştir. Araştırmacılar, iletkenliğin artmasının, çözeltilerde serbest iyonların artmasına bağlı olarak jet içinde daha fazla yük taşınarak, jeti elektrik alanında daha belirgin gerilmeye maruz bıraktığını ve bunun da nanolif çapını düşürdüğünü belirtmişlerdir (Xu ve ark., 2022b). Gliserol ve/veya probiyotik hücre ilaveli çözeltilerden elde edilen nanoliflerde çapların büyük olması da aynı şekilde çözelti özelliklerinden ve bu maddelerin bir kısmının nanoliflerde enkapsüle şekilde bulunmasından kaynaklanmış olabilir. Celebioglu ve Uyar (2021), pullulan nanoliflerinde öjenol-siklodekstrin komplekslerini enkapsüle ettikleri çalışmalarında, bu çalışmada gliserol ilavesinde olduğu gibi, öjenol ilavesiyle pullulan çözeltilisinin viskozitesinin arttığını ve buna bağlı olarak da oluşan nanoliflerin, sadece pullulan kullanılarak üretilen nanoliflere göre, çaplarının önemli

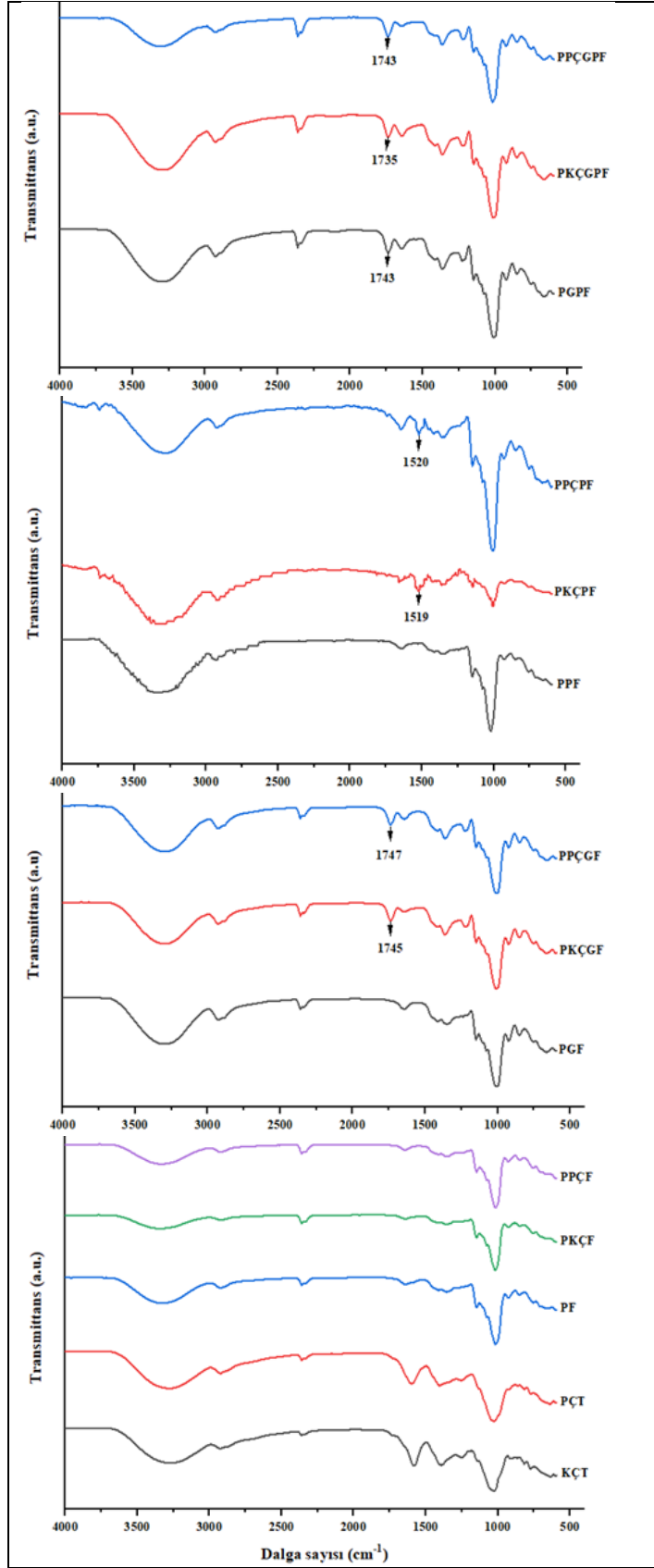
derecede daha kalın olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar bu durumu, yüksek viskozitenin elektrospinning jetinin gerilmesini inhibe etmesine bağlamışlardır (Celebioglu ve Uyar, 2021). Fung ve ark., (2011) ve Yılmaz ve ark., (2020) da çalışmalarında benzer şekilde probiyotik hücreleri içeren nanoliflerin daha kalın çaplara sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Ayrıca gliserol ve gliserol/probiyotik içeren nanolif ağlarında birim alandaki lif sayısının diğerlerine göre daha az olduğu görülmektedir. Bu durum, nanolif çaplarının artmasından kaynaklanmış olabilir.

4.3.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Elektrospun nanoliflerinde kivi ve portakal posalarının suda çözünür fraksiyonları (sırasıyla KÇF ve PÇF), gliserol ve probiyotik hücrelerin varlığını incelemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılarak, KÇF ve PÇF tozları (KÇT ve PÇT), gliserol ve/veya probiyotik *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini içeren/içermeyen pullulan, pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF nanoliflerinin yapısal analizleri yapılmış ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Bu analizler neticesinde, KÇT, PÇT ve nanoliflerde bulunan diğer bileşiklerin (pullulan, probiyotik ve gliserol) içerdikleri kimyasal yapılar ve bu yapıların, nanoliflerin FTIR spektrumlarında hangi piklere karşılık gelmiş olabilecekleri aşağıda değerlendirilmiştir:

KÇF ve PÇF tozlarının FTIR spektrumlarında pektinden kaynaklandığı düşünülen pikler ve karşılık gelen grupların, KÇF ve PÇF için yerleri farklı olmakla birlikte sırasıyla şu şekilde olduğu düşünülmektedir: 3271 ve 3278 cm^{-1} 'deki absorpsiyon pikleri, O-H'nin gerilme titreşimleri; 2924 cm^{-1} 'deki absorpsiyon pikleri, metil ester gruplarının veya piranoid halka karbonlarının C-H bağlarının gerilme titreşimleri ve 1750 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon pikleri ise, esterleşmiş karboksil gruplarının gerilmesinden kaynaklanmış olabilir. Yaklaşık olarak 1581 ve 1597 cm^{-1} 'deki absorpsiyon pikleri de serbest karboksil gruplarının gerilmesine bağlanabilir (Vityazev ve ark., 2020; Xu ve ark., 2022b). KÇF ve PÇF için sırasıyla, 1396-1257 ve 1404-1249 cm^{-1} arasındaki bölgeler, C-O-C bağlarının ve CH gruplarının veya metil ester gruplarının asimetrik gerilme titreşimleriyle ilgili olabilir. Ayrıca 1026-910 ve 925 cm^{-1} 'de bulunan pikler, piran halkalarının ve glikozit bağlarının C-O ve



Şekil 4.12 Nanoliflerin FTIR Spektrumları

C-C titreşimlerini ve 771-763 ile 632-640 cm^{-1} 'deki bantlar, C-OH ve C-H gruplarının bükülme titreşimlerini göstermektedir (Vityazev ve ark., 2020). KÇF ve PÇF tozlarında da bulunan glikoz, fruktoz ve sakkarozun, 1400-900 cm^{-1} bölgesinde yoğun karakteristik pikler gösterdiği bildirilmiştir. Dolayısıyla KÇF ve PÇF ile ilgili sırasıyla 1396-910 ve 1404-925 cm^{-1} bölgelerindeki pikler, şekerlerden kaynaklı olabilir. Bu bağlamda 1026-910 ve 1026-925 cm^{-1} bölgesindeki pikler C-O ve C-C gerilmelerini, 1396-1257 ve 1404-1249 cm^{-1} bölgesindeki pikler ise, karbonhidratların O-C-H, C-C-H ve C-O-H bükülme titreşimlerini göstermektedir (Leopold ve ark., 2011). Ayrıca yaklaşık olarak 2353 cm^{-1} 'de bulunan pik, KÇF ve PÇF tozunun bileşiminde bulunduğu düşünülen yağlardan kaynaklı C=O gerilme titreşimlerini veya protein kaynaklı (amino asit bağları titreşimi) C=O ve N-H gerilmelerini göstermektedir (Bankar ve ark., 2010). C=O bükülme titreşimlerine karşılık gelen 2337 cm^{-1} pikinin de yağ veya proteinlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Church ve ark., 2016). Bu çalışmada, Amiri ve ark., (2021) çalışmalarıyla benzer şekilde, probiyotik hücre içeren nanolifler ile içermeyenlerin FTIR spektrumları çok benzer olmakla birlikte gram pozitif bakterilerin hücre duvarında karboksilik asit gruplarının varlığından dolayı, *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini içeren nanoliflerin FTIR spektrumunda 1651-925 cm^{-1} bölgesinde hücrelerle de ilgili olduğu düşünülen bazı pikler gözlenmektedir. 1651 ve 1643 cm^{-1} bölgesindeki pikler, C=O gerilme titreşimi; 1419 ve 1411 cm^{-1} civarındaki pikler, O-H bükülme titreşimi; 1357 ila 1234 cm^{-1} aralığındaki pikler, C-O'nun gerilme titreşimleri ve yaklaşık olarak 925 cm^{-1} alanındaki pikler, O-H bükülme titreşimleriyle ilgili olabilir (Amiri ve ark., 2021). Ayrıca probiyotik hücre içeren nanoliflerde 1500 cm^{-1} civarında görülen pikler, proteinlerin N-H bükülme titreşimlerinden kaynaklanmış olabilir (Yılmaz ve ark., 2020).

Nanoliflerin yapısında bulunan bir diğer bileşik gliseroldür. Saf gliserolün, 3650 cm^{-1} ve 3000-2800 cm^{-1} bölgesinde sırasıyla, O-H ve C-H gerilme titreşimlerine karşılık gelen, 1300-1400 cm^{-1} 'de C-H titreşimleriyle ilişkili ve 1107-1028 cm^{-1} bölgesinde C-O gerilme titreşimlerine karşılık gelen pikler verdiği bildirilmektedir (Gómez-Siurana ve ark., 2013).

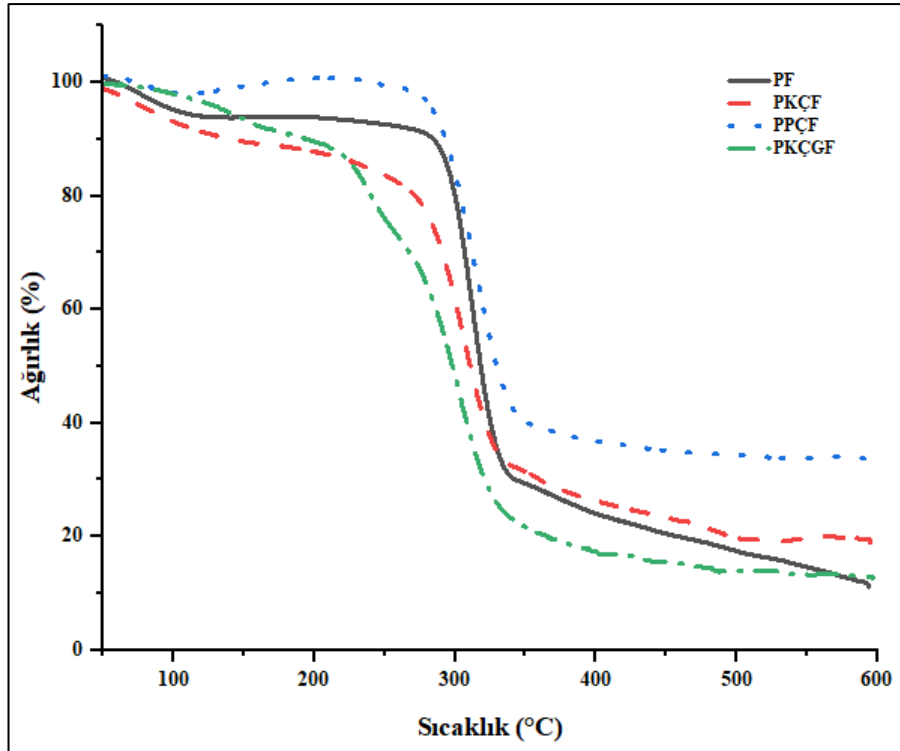
Şekil 4.12'de pullulan nanolifinin (PF) spektrumunda yaklaşık olarak 3325 cm^{-1} 'de görülen pik, pullulan nanolifinin hidroksil grubunu (O-H) göstermektedir

(Wang ve ark., 2019; Mehdi ve ark., 2021). Pullulanla birlikte diğer bileşikleri (KÇF, PÇF, gliserol ve *Lactobacillus acidophilus* hücreleri) içeren nanoliflerde bu pikte kayma meydana gelmiştir. Bu durum, pullulanla diğer bileşikler arasında hidrojen bağlarının oluşması şeklinde interaksiyonların meydana geldiğini gösterebilir (Wang ve ark., 2019). Ayrıca 2924, 1635 cm^{-1} 'de görülen pikler sırasıyla, C-H gerilmesine ve H-O-H bükülmesini (Celebioglu ve Uyar, 2021); 1300-1500 cm^{-1} aralığındaki pikler CH/CH₂ deformasyon titreşimlerini (Karim ve ark., 2009); 1234-1018 cm^{-1} pikleri C-O gerilmesini (Karim ve ark., 2009; Celebioglu ve Uyar, 2021); 925 ve 750 cm^{-1} civarındaki pikler, sırasıyla pullulanın α -(1,6) ve α -(1,4) glikozidik bağlarını (Karim ve ark., 2009 ;Qin ve ark., 2022) ve 848 cm^{-1} 'deki pik ise, α -glukopiranosit yapısını göstermektedir (Qin ve ark., 2022).

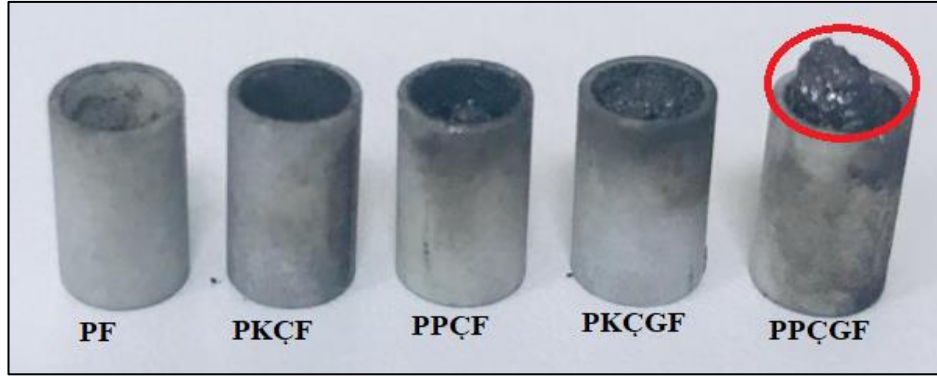
Yukarıda nanoliflerin yapısında bulunan bileşiklerin yapıları ve bu yapıların FTIR spektrumlarında hangi piklere karşılık gelebileceği literatüre göre anlatılmıştır. Bununla birlikte aynı yapıların farklı nanoliflerde farklı pikler gösterebileceği ve bu piklerin yoğunluklarında da farklılıklar meydana gelebileceği görülmektedir. Bazı piklerin yoğunluklarının farklı olması (Ma ve ark., 2021) ve farklı nanoliflerde aynı bileşiklerin yapılarına ait piklerin yer değiştirmesi, bileşikler arasında interaksiyonların oluşmuş olabileceğini göstermektedir (Wang ve ark., 2019). Örneğin yukarıda da ifade edildiği gibi esterleşmiş karboksil gruplarının gerilmesinden kaynaklandığı düşünülen 1735-1747 cm^{-1} civarındaki pikler PKÇ, PÇF, PKÇPF ve PPÇPF örneklerinde çok düşük yoğunlukta iken PKÇGF, PPÇGF, PGPF, PKÇGPF ve PPÇGPF örneklerinde daha belirgin olarak görülmektedir. Bu durum, KÇF, PÇF ve probiyotik hücrelerde bulunan organik asitlerin karboksil grupları ile gliserolün OH grupları arasında interaksiyonlar meydana gelmiş olabileceğini göstermektedir (Shi ve ark., 2007). Bir diğer örnek, probiyotik hücrelerde proteinlerin N-H bükülme titreşimlerinden kaynaklandığı düşünülen 1500 cm^{-1} civarındaki pikler (Yılmaz ve ark., 2020), KÇF ve PÇF ile birlikte probiyotik hücre içeren nanoliflerde 1519 cm^{-1} civarında görülmekte iken, KÇF/PÇF içermeyen ve gliserol ilaveli nanoliflerde bu pikin çok belirgin olmadığı görülmektedir. Bu durum, KÇF/PÇF ile probiyotik hücreler arasında inetraksiyonların meydana geldiğini veya gliserolün ve yüksek pullulan içeriğinin bu yapıyı baskıladığını düşündürmektedir.

4.3.3 Termal Karakterizasyon (TG-DSC)

Çalışmada probiyotik *L. acidophilus* hücrelerinin enkapsülasyonlarında kullanılan nanolif örneklerinin termal davranışları veya stabiliteleeri, termogravimetrik analiz cihazı (TGA) kullanılarak değerlendirilmiş ve PF, PKÇF, PPÇF ve PKÇGF nanoliflerinin elde edilen termogramları Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Gliserol içeren nanolif örneklerinden PKÇGF ve PPÇGF'nin analizleri sırasında sıcaklık artışına bağlı olarak, örneklerin konulduğu krezelerde Şekil 4.14'te görüldüğü gibi, PPÇGF örneğinde taşma derecesinde olmak üzere, yüksek seviyelerde hacim artışları meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu durumun, hem cihaza zarar vereceği hem de analiz sonuçlarının doğruluğunu etkileyeceği düşünüldüğünden, geriye kalan PGF örneği analiz edilmemiş ve PKÇGF'ye ait sonuçlar ise, değerlendirmeye alınmamıştır.



Şekil 4.13 Nanoliflerin Termogramları



Şekil 4.14 Nanoliflerin TGA Analizi Sonucunda Krozelerdeki Görünümleri

PF, PKÇF ve PPÇF nanolif örneklerinin termogramları incelendiğinde (Şekil 4.13), 600°C'ye kadar aşamalı olarak uygulanan ısıl işlem süresince, 3 önemli ağırlık kaybı bölgesi meydana geldiği görülmektedir:

1. PF, PKÇF ve PPÇF için sırasıyla 152, 169 ve 110°C sıcaklığa kadar, su (Celebioglu ve Uyar, 2021; Fareed ve ark., 2022) ve diğer uçucu bileşiklerin (Fareed ve ark., 2022) buharlaşmasına bağlı olarak ağırlık kayıpları gözlenmektedir. Bu aşamada ağırlık kayıpları, örnekler için sırasıyla, % 6.31, 11.01 ve 2.15 kadardır. İlk ağırlık kaybının gerçekleştiği bu aşamada, sıcaklık ve kayıp oranları değerleri arasındaki farklılıkların, nanolif örneklerindeki, üretim sırasında yapıda kalan ve/veya çevreden absorbe edilen, su miktarı ve bu suyun, zayıf/kuvvetli bağlanmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

2. Bu bölge, şekilde görüldüğü gibi, ağırlık kayıplarının en fazla olduğu bölgedir ve PF, PKÇF ve PPÇF örnekleri için sırasıyla, 343, 338 ve 354°C sıcaklığa kadar ve %64.48, 56.29 ve 58.15 oranlarında kütle kayıpları meydana gelmiştir. Bu kayıplar, pullulan, pektin ve şeker gibi bileşiklerin bozunmaları ve ayrışmalarından kaynaklanmaktadır. (Celebioglu ve Uyar, 2021; Qin ve ark., 2022). Bu sonuçlarla benzer şekilde, Ponrasu ve ark., (2021) ve Celebioglu ve Uyar (2021), çalışmalarında pullulan nanoliflerinde önemli ağırlık kayıplarının sırasıyla, 330 ve 326°C sıcaklarda görüldüğünü; Qin ve ark., (2022) ve Abedini ve ark., (2023) ise polisakkarit yapılarında glikosidik bağların depolimerizasyonu ve kırılmasının, daha çok sırasıyla, 244-397 ve 125-350°C sıcaklık aralığında meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca en yüksek ağırlık kayıplarının meydana geldiği sıcaklık değerlerine göre, pektin içeriğinin daha yüksek olduğu düşünülen, PPÇF nanolifinin

termal stabilitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, pektinle pullulan ve diğer bileşikler arasında interaksiyonların gerçekleşmiş olabileceğini göstermektedir. İnteraksiyonların, termal stabiliteyi artırabileceği ve buna bağlı olarak bozunmanın daha yüksek sıcaklıklarda görülebileceği bildirilmektedir (Karim ve ark., 2009; Celebioglu ve Uyar, 2021). Xu ve ark., (2022b) çalışmalarında da PVA/Pektin bazlı nanoliflerde, pektinden dolayı termal stabilitenin arttığı bildirilmiştir.

3. Bu aşamada da organik bileşiklerin geriye kalan kısımlarının bozunması, ortalama 595°C'ye kadar devam etmiş ve PF, PKÇF ve PPÇF örnekleri için sırasıyla, %18.3, 13.35 ve 6.6 oranlarında ağırlık kayıpları meydana gelmiştir. Üç bölgenin toplamında ise, sırasıyla % 89.09, 80.65 ve 66.90 oranlarında ağırlık kayıpları tespit edilmiştir. Analiz sonucunda, nanolif örneklerinden geriye kalan kısımların önemli miktarları, inorganik bileşiklerden oluşmaktadır (Imran ve ark., 2017).

Gliserol içeren PKÇGF örneğinde ise, diğer nanoliflerden farklı olarak, gliserolün bozunmasından kaynaklı önemli bir ağırlık kaybı bölgesi daha görülmekte ve toplamda 4 önemli ağırlık kaybı bölgesi gözlenmektedir (Şekil 4.13). Gliserolün bozunması, yaklaşık olarak 184-260°C sıcaklık aralığında gerçekleşmiş ve %18.04 civarında bir ağırlık kaybı tespit edilmiştir. Cao ve ark., (2018) çalışmalarında da benzer şekilde, gliserolün ikinci aşamada ve 200°C civarında bozunduğu bildirilmiştir. Bu örnekte en fazla ağırlık kaybı 260-361°C sıcaklık aralığında, %52.31 oranında ve toplamda ise 595°C sıcaklığa kadar, %87.31 oranında ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. Ayrıca örneklerde bozunmanın en fazla gerçekleştiği sıcaklık değerlerine bakıldığında, PKÇGF örneğinin 361°C sıcaklık değeriyle ısıtılma karşı, diğer örneklerden daha stabil olduğu bulunmuştur. Bu durum, diğer örneklerden farklı olarak gliserol içeriğine de sahip PKÇGF nanolifinde, pektin dışında, gliserol ile diğer bileşikler arasında da interaksiyonlar gerçekleşmiş olabileceğini göstermektedir. Cao ve ark., (2018) çalışmalarında da gliserol ilavesinin, gam bazlı yenilebilir filmlerin termal stabiliteğini artırdığı bildirilmiştir.

Yukarıda tartışılan TGA analiz sonuçlarına göre her bir nanolif örneğinin termal stabilitesinin farklı olduğu görülmekte ve dolayısıyla bu durum, nanolif

üretiminde kullanılan KÇF, PÇF ve gliserolün de pullulanla birlikte nanoliflerin yapılarında yer aldığını göstermektedir.

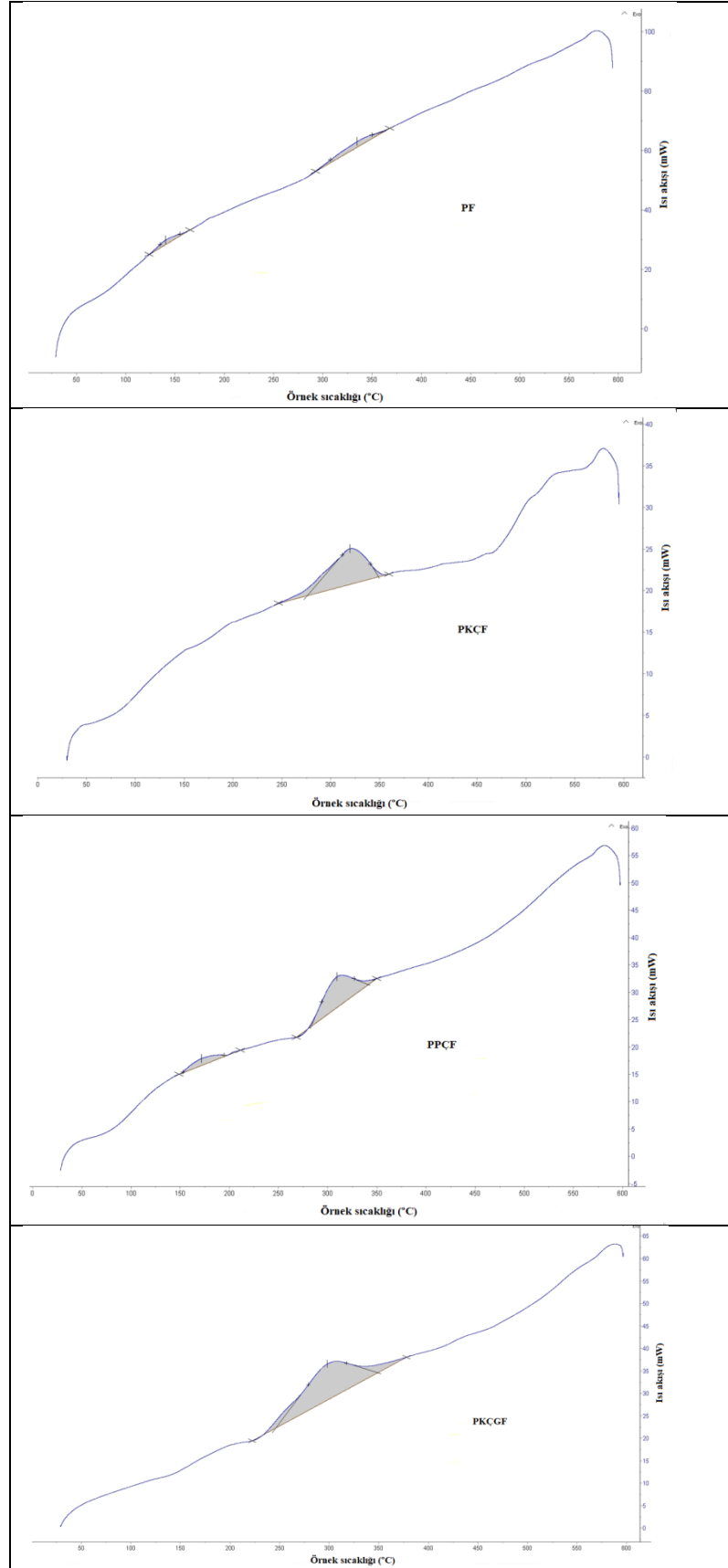
Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), nanolif yapısında yer alan bileşiklerin etkileşimlerini netleştirmek için kullanılabilir başka bir termal analitik araç olarak görülmektedir. Buharlaşma, erime, ayrışma veya oksidasyon pikleri, bileşenler arasındaki çeşitli etkileşimlerin bir sonucu olarak, kaybolabilmekte, genişleyebilmekte veya kayabilmektedir (Celebioglu ve Uyar, 2021). TGA’da olduğu gibi DSC analizinde de PF, PKÇF, PPÇF ve PKÇGF örnekleri değerlendirilmiş ve bunların DSC grafikleri, Şekil 4.15’te gösterilmiştir. PF, PKÇF, PPÇF ve PKÇGF nanolifleri için maksimum ayrışma ve buharlaşma ısı pikleri sırasıyla, 334, 320, 309 ve 298°C’de olmak üzere en fazla ısının, 292-368, 246-360, 268-350 ve 222-378°C sıcaklık aralıklarında 90.45, 211, 262 ve 524 j/g miktarlarında açığa çıktığı tespit edilmiştir.

DSC termogramlarında görülen bu farklılıklar da nanolif üretiminde pullulanla birlikte kullanılan gliserol ve düşük miktarlardaki KÇF/PÇF’nin başarılı bir şekilde nanoliflerin yapılarında yer aldığını göstermektedir.

4.3.4 Zeta Potansiyeli

Zeta potansiyeli, bir kolloidal dispersiyon ortamının elektriksel yüzey potansiyelini ve bu ortamda kolloidal halde dağılmış parçacıklar arasındaki itme ve çekme şeklindeki etkileşimlerin büyüklüğünü gösteren (Ghalehjoogh ve ark., 2023) ve böylelikle parçacıkların fizikokimyasal ve biyolojik stabilitelerini ortaya çıkaran (Yılmaz ve ark., 2022) önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Zeta potansiyel değeri, pozitif, nötr veya negatif olabilmekte ve mutlak zeta potansiyel değerinin yüksek çıkması, kolloid süspansiyonun yüksek stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir (Asgari ve ark., 2021).

Bu çalışmada nanoliflerin, iki farklı konsantrasyonda, sulu çözeltileri hazırlanarak, bu çözeltilerde zeta potansiyeli ile birlikte pH ve iletkenlik ölçümleri de yapılmış ve ölçülen değerlerin istatistiksel analizleri yapılarak, nanolif örneklerine ait pH, iletkenlik ve zeta potansiyeli ortalama değerleri arasındaki farklılıkların



Şekil 4.15 Nanoliflerin DSC Grafikleri

örnek, konsantrasyon ve örnek*konsantrasyon interaksyonu açısından önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.7, P<0.05).

Çizelge 4.7 Nanoliflerin Zeta Potansiyeli Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

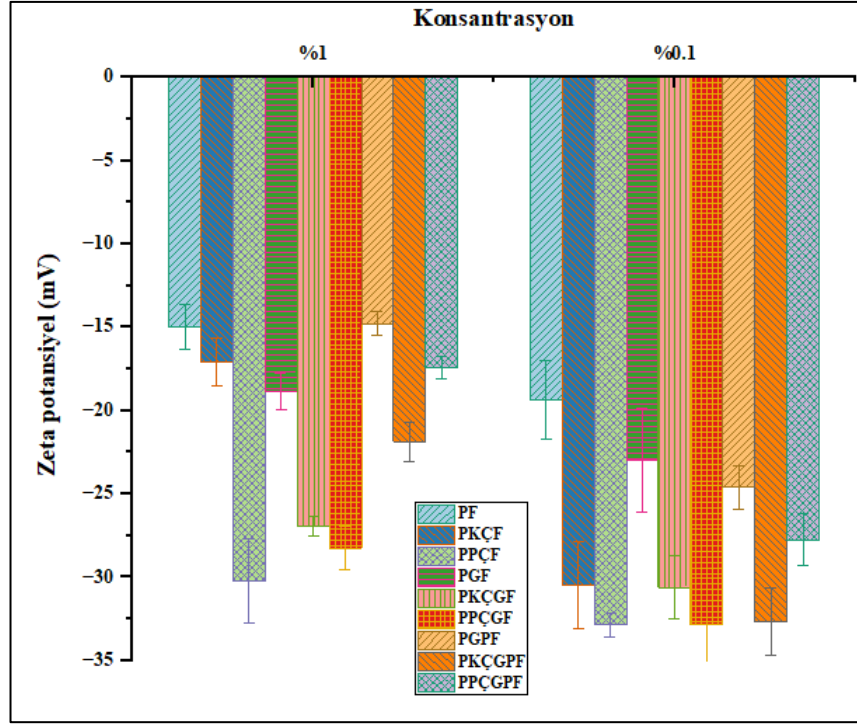
	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	8	1234.72481	154.3406	49.37144	<0.0001
Konsantrasyon	1	677.69796	677.69796	216.78627	<0.0001
İnteraksiyon	8	189.28704	23.66088	7.56879	<0.0001
Model	17	2101.70981	123.62999	39.54754	<0.0001
Hata	36	112.54	3.12611		
Düzeltilmiş Toplam	53	2214.24981			

Nanoliflerin zeta potansiyel değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.16); sadece pullulan kullanılarak üretilen nanolifin zeta değerlerinin (-14.97 ve -19.33) önemli derecede daha düşük olduğu görülmektedir (P<0.05). Pullulanla birlikte KÇF ve PÇF içeren nanoliflerde (PKÇF ve PPÇF) zeta potansiyel değerlerinin (sırasıyla, -17.07 - (-30.50) ve -30.23 - (-32.87)) önemli derecede arttığı görülmüştür. Spatareanu ve ark., (2014) çalışmalarında pullulan tozunun zeta potansiyelinin +2.2 ve okside edilmiş pullulanın ise, oksitlenme derecesine bağlı olarak -12.6 – (-34.4) arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.8 Nanoliflerin Farklı Kontrasyonlarındaki Sulu Çözeltilerinde Zeta Potansiyeli ve Bazı Özelliklerine Ait Ortalama Değerleri İle Standart Sapmalar

Örnek	Konsantrasyon					
	%1 pH	%0.1 pH	%1 İletkenlik (µS/cm)	%0.1 İletkenlik (µS/cm)	%1 Zeta (mV)	%0.1 Zeta (mV)
PF	5.74±0.01 ^{Aa}	5.50±0.01 ^{Cb}	0.021±0.001 ^{Fa}	0.015±0.000 ^{Db}	-14.97±1.36 ^{Db}	-19.33±2.35 ^{Da}
PKÇF	5.75±0.02 ^{Aa}	5.59±0.01 ^{Ab}	0.120±0.000 ^{Ca}	0.025±0.000 ^{BCDb}	-17.07±1.43 ^{CDb}	-30.50±2.62 ^{ABa}
PPÇF	5.74±0.01 ^{Aa}	5.51±0.01 ^{Cb}	0.016±0.000 ^{Fb}	0.041±0.002 ^{Aa}	-30.23±2.53 ^{Aa}	-32.87±0.75 ^{Aa}
PGF	5.56±0.01 ^{Ba}	5.53±0.01 ^{Bb}	0.020±0.000 ^{Fa}	0.020±0.008 ^{CDa}	-18.87±1.10 ^{BCa}	-22.97±3.13 ^{CDa}
PKÇGF	5.57±0.01 ^{Ba}	5.58±0.01 ^{Aa}	0.104±0.000 ^{Da}	0.026±0.001 ^{BCb}	-26.90±0.60 ^{Ab}	-30.60±1.91 ^{ABa}
PPÇGF	5.73±0.01 ^{Aa}	5.54±0.01 ^{Bb}	0.041±0.005 ^{Ea}	0.020±0.003 ^{CDb}	-28.27±1.29 ^{Ab}	-32.83±2.41 ^{Aa}
PGPF	4.25±0.01 ^{Db}	5.22±0.01 ^{Da}	0.107±0.002 ^{Da}	0.024±0.000 ^{BCDb}	-14.80±0.72 ^{Db}	-24.60±1.32 ^{BCDa}
PKÇGPF	4.41±0.01 ^{Cb}	5.16±0.01 ^{Ea}	0.179±0.003 ^{Aa}	0.032±0.002 ^{ABb}	-21.87±1.16 ^{Bb}	-32.70±2.02 ^{Aa}
PPÇGPF	4.01±0.01 ^{Eb}	5.03±0.01 ^{Fa}	0.131±0.002 ^{Ba}	0.027±0.004 ^{BCb}	-17.43±0.67 ^{CDb}	-27.77±1.55 ^{ABCa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar (P<0.05), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-F}). Nanoliflerin farklı konsantrasyonlardaki (%1 ve 0.1) sulu çözeltilerinde yapılan aynı analizlerin sonuçları arasındaki önemli (P<0.05) farklılıklar, farklı küçük harflerle gösterilmiştir (^{a-b}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir (P>0.05). PF; pullulan, PKÇF; pullulan/KÇF, PPÇF; pullulan/PÇF, PGF; pullulan/gliseroL, PKÇGF; pullulan/KÇF/gliseroL, PPÇGF; pullulan/PÇF/gliseroL, PGPF; pullulan/gliseroL/L *acidophilus*, PKÇGPF; pullulan/KÇF/gliseroL/L *acidophilus*, PPÇGPF; pullulan/PÇF/gliseroL/L *acidophilus* bileşimlerinden oluşan nanoliflerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.16 Nanoliflerin Sulu Çözeltilerinde Konsantrasyona Göre Zeta Potansiyeli Ortalama Değerlerinin Değişimi

Biliuta ve ark., (2022) çalışmalarında da pullulan tozu ve okside pullulan tozu için buna benzer değerler bildirilmiştir. Araştırmacılar, oksitlenmeyle pullulan polimer zincirinde karboksil (COO^-) gibi negatif yüklü grupların oluştuğunu ve bunların miktarına bağlı olarak, zeta potansiyelinin negatif yönde artabileceğini bildirmişlerdir (Spatareanu ve ark., 2014; Biliuta ve ark., 2022). Dolayısıyla bu çalışmada da üretilen pullulan nanoliflerinde, pullulan tozuna göre, yüksek değerlerde negatif zeta potansiyel değerlerinin bulunması, elektrospinning prosesi sırasında oksidasyonun gerçekleşmiş olabileceğini veya voltaj uygulamasına bağlı olarak oluşan nanoliflerde negatif yönde daha fazla yüklenme olmuş olabileceğini düşündürmektedir. KÇF ve PÇF içeren nanoliflerde zeta potansiyel değerinin negatif yönde artması, bu fraksiyonlarda bulunan pektin içeriğinden kaynaklanmış olabilir. McCune ve ark., (2018) çalışmalarında, benzer şekilde, pektin ilavesiyle nanoliflerde zeta potansiyel değerinin negatif yönde arttığını ve bu durumun, pektinin polianyonik bir polimer olmasına bağlı olarak, negatif bir yüzey yükü üretmesiyle ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Fu ve ark. (2022) da çalışmalarında pektindeki karboksil gruplarının ($-\text{COOH}$), elektrospinning prosesi sırasında COO^- şeklinde iyonize edildiğini ve bu durumun, negatif bir zeta potansiyel değeri oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Gliserol ilavesiyle üretilen pullulan bazlı nanolifin (PGS) ve %1 konsantrasyon ortamında Pullulan/KÇF bazlı nanolifin (PKÇGF) zeta değerlerinin, önemli derecede arttığı ($P<0.05$); %0.1 konsantrasyon ortamında PKÇGF ve her iki konsantrasyonda PPÇGF'nin zeta potansiyel değerlerinde ise, sırasıyla PKÇF ve PPÇF'ye göre önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Gliserol içeren nanoliflere, probiyotik hücrelerin de eklenmesiyle, %1 konsantrasyon ortamında, nanoliflerin zeta değerlerinin önemli derecede düştüğü; %0.1 konsantrasyonda ise, Pullulan ve Pullulan/KÇF bazlı nanoliflerde değerlerin arttığı ve Pullulan/PÇF bazlı nanolifin zeta değerinin önemli derecede azaldığı görülmektedir ($P<0.05$). Ayrıca % 0.1 konsantrasyon ortamında nanoliflerin zeta potansiyel değerlerinin, %1 konsantrasyona göre önemli derecede daha yüksek olduğu ($P<0.05$) ve %0.1 konsantrasyonda daha tutarlı sonuçların elde edildiği görülmüştür. Wang ve ark., (2013) çalışmalarında da, bu çalışmada olduğu gibi, sabit pH'da, konsantrasyon arttıkça zeta potansiyel değerinin genel olarak pozitif yönde arttığı bildirilmektedir. Bu doğrultuda çalışmada probiyotik içeren nanoliflerin, %1 konsantrasyon ortamında zeta değerlerinin düşmesi, pH değerlerinde önemli derecede meydana gelen düşüşe bağlanabilir. Çünkü pH'nın zeta potansiyelini önemli derecede etkilediği ve zeta potansiyelinin, pH düştükçe pozitif yönde arttığı ve artan pH ile önce nötr değere (0) doğru azaldığı (Wang ve ark., 2013) sonra ise, pH artışının devam etmesine bağlı olarak zeta potansiyel değerinin negatif yönde arttığı bildirilmektedir (Wijesena ve ark., 2020). Nanoliflere probiyotik ilavesiyle, pH değerlerinin nispeten daha az değiştiği %0.1 konsantrasyon ortamında, zeta değerlerinin negatif yönde artmasının ise, *Lactobacillus* türlerinde peptidoglikan hücre duvarının, ikame edici teikoik ve teikuronik asit kalıntılarında bulunan fosforil gruplarının yanı sıra ikame edilmemiş karboksilat gruplarından dolayı negatif bir elektrostatik yüzey yüküne sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir (Wilson ve ark., 2001). Yılmaz ve ark., (2020) ve Ghalehjoogh ve ark., (2023) çalışmalarında da benzer şekilde, *Lactobacillus* probiyotik hücrelerini içeren nanoliflerde, içermeyenlere göre, zeta değerlerinin negatif yönde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Zeta potansiyel değerleri (mV) +25'in üstünde veya -25'in altında olan kolloidal sistemlerin, herhangi bir topaklanma olmadan stabil kaldığı kabul edilmektedir (Okutan ve ark., 2014). Dolayısıyla bu çalışmada, sadece pullulan yapı malzemesiyle üretilen (PF,

PGF ve PGPF) nanolifler dışındaki tüm nanoliflerin, %0.1 konsantrasyon ortamındaki değerlere göre, stabil oldukları ve bu bağlamda KÇF/PÇF kullanımı ile pullulan bazlı nanoliflerin, dispersiyon ortamlarında stabiliteilerinin arttırılabileceği söylenebilir.

Tutarlı sonuçların ölçülebildiği %0.1 konsantrasyon ortamında, zeta potansiyel değerleriyle iletkenlik değerlerinin genel olarak doğrusal yönde ilişkili oldukları da görülmektedir (Çizelge 4.8).

4.3.5 *Lactobacillus acidophilus* İçeren Polimer Çözeltilerinde ve Nanoliflerde Hücre Sayıları

Bu çalışmada, probiyotik *Lactobacillus acidophilus* hücrelerinin elektrospinning tekniğiyle nanoliflerde enkapsülasyonu sürecinde, hücre sayılarında meydana gelen değişimler veya canlılık kayıpları tespit edilmiştir. Bu amaçla, polimer çözeltilerine ilave edilen *L. acidophilus* probiyotik hücrelerinin başlangıç sayıları, hücrelerin homojen bir şekilde dağılımları için çözeltilerin karıştırılması işlemi sonunda ve elektrospinning işlemi sonunda üretilen nanoliflerde enkapsüle şekilde bulunan hücrelerin canlı olarak sayıları belirlenmiştir.

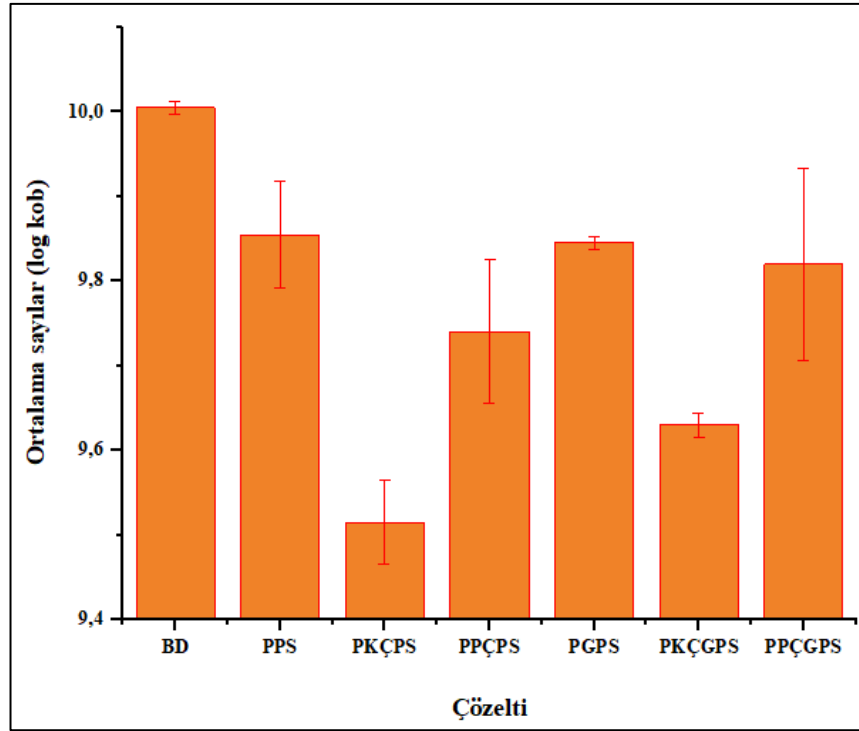
Yaklaşık olarak 10^{10} adet *L. acidophilus* hücresi ilave edilerek, elektrospinning için hazır hale getirilen polimer çözeltilerinde yapılan mikrobiyolojik analiz neticesinde, gliserol içermeyen çözeltilerden PKÇPS'nin (9.51), diğerlerine göre (PPS ve PPÇPS için sırasıyla 9.85 ve 9.74) canlı hücre sayısının önemli derecede daha düşük olduğu ve gliserol ilavesiyle, PGPS dışında, De Gregorio ve ark., (2017) çalışmalarında olduğu gibi çözeltilerde hücrelerin canlılıklarının önemli oranlarda korunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9, Şekil 4.17, $P < 0.05$).

Mikroorganizmaların gelişip çoğalmaları, lag (uyum), logaritmik (log), durgun (latent) ve ölüm (letal) fazı olmak üzere 4 fazda incelenmektedir (Rolf ve ark., 2012; Amir ve ark., 2022). Bu durumda, kivi ve portakal posalarının suda çözünür fraksiyonlarını (çözünür diyet lif, şeker, mineral madde vs.) içeren ve diğer çözeltilerine göre daha yüksek pH değerlerine sahip olan PKÇS ve PPÇS çözeltilerine ilave edilen *L. acidophilus* hücrelerinin, diğer çözeltilerine göre daha hızlı bir şekilde çoğalarak, durağan ve ardından ölüm fazına geçmiş olabilecekleri ve bundan dolayı da canlı hücre sayılarının daha fazla düşmüş olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.9 Polimer Çözeltilerine İlave Edilen ve Polimer Çözeltilerinde Tespit Edilen Toplam *L. acidophilus* Sayı Değerleri

Polimer çözeltisi	<i>L. acidophilus</i> sayı değerleri (log kob)
Başlangıç değeri	10.01 ± 0.01 ^A
PPS	9.85 ± 0.06 ^{AB}
PKÇPS	9.51 ± 0.05 ^C
PPÇPS	9.74 ± 0.08 ^{BC}
PGPS	9.84 ± 0.01 ^{AB}
PKÇGPS	9.63 ± 0.01 ^{BC}
PPÇGPS	9.82 ± 0.11 ^{AB}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-C}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). PPS; pullulan/*L. acidophilus*, PKÇPS; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPS; pullulan/PÇF/*L. acidophilus*, PGPS; pullulan/gliseroL/*L. acidophilus*, PKÇGPS; pullulan/KÇF/gliseroL/*L. acidophilus*, PPÇGPS; pullulan/PÇF/gliseroL/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan su bazlı polimer çözeltilerinin kodlarıdır. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin çözeltilerdeki oranları kurumada üzerinden %5'tir. Gliserol içeren çözeltilerde gliserol oranı %3'tür.



Şekil 4.17 Polimer Çözeltilerine İlave Edilen Toplam *L. acidophilus* Hücre Sayısı ve Bu Sayının Farklı Polimer Çözeltilerinde Değişimi

Ayrıca PKÇPS ve PPÇPS çözeltilerinin, manyetik karıştırıcıda karıştırılırken, diğer çözeltilere göre daha belirgin şekilde köpürdükleri ve dolayısıyla daha fazla hava kabarcıkları içerdikleri gözlemlenmiştir. Bununla birlikte gliserolün oksijen geçirgenliğinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir (Liang ve ark., 2015). Dolayısıyla PKÇPS ve PPÇPS çözeltilerinde, diğerlerine göre daha fazla miktarlarda oksijen bulunduğunu ve bu yüzden *L. acidophilus* hücrelerinde daha yüksek sayıda

canlılık kayıpları meydana geldiğini söyleyebiliriz (Fung ve ark., 2011). Çünkü probiyotik laktik asit bakterilerinin oksijen duyarlılığı, canlılıklarını sınırlayan önemli bir faktör olarak görülmektedir (Feng ve Wang, 2020).

Çizelge 4.10 Polimer Çözeltilerinde ve Bu Çözeltilerden Üretilen Nanoliflerde Belirlenen Toplam Canlı Hücre Sayıları (log kob)

Polimer çözeltisi	<i>L. acidophilus</i> sayısı	Nanolif	<i>L. acidophilus</i> sayısı
PPS	9.73 ± 0.07 ^a	PPF	8.59 ± 0.01 ^b
PKÇPS	9.38 ± 0.05 ^a	PKÇPF	9.10 ± 0.02 ^b
PPÇPS	9.62 ± 0.08 ^a	PPÇPF	9.02 ± 0.06 ^b
PGPS	9.70 ± 0.01 ^a	PGPF	8.50 ± 0.01 ^b
PKÇGPS	9.47 ± 0.01 ^a	PKÇGPF	8.55 ± 0.01 ^b
PPÇGPS	9.68 ± 0.12 ^a	PPÇGPF	8.57 ± 0.04 ^b

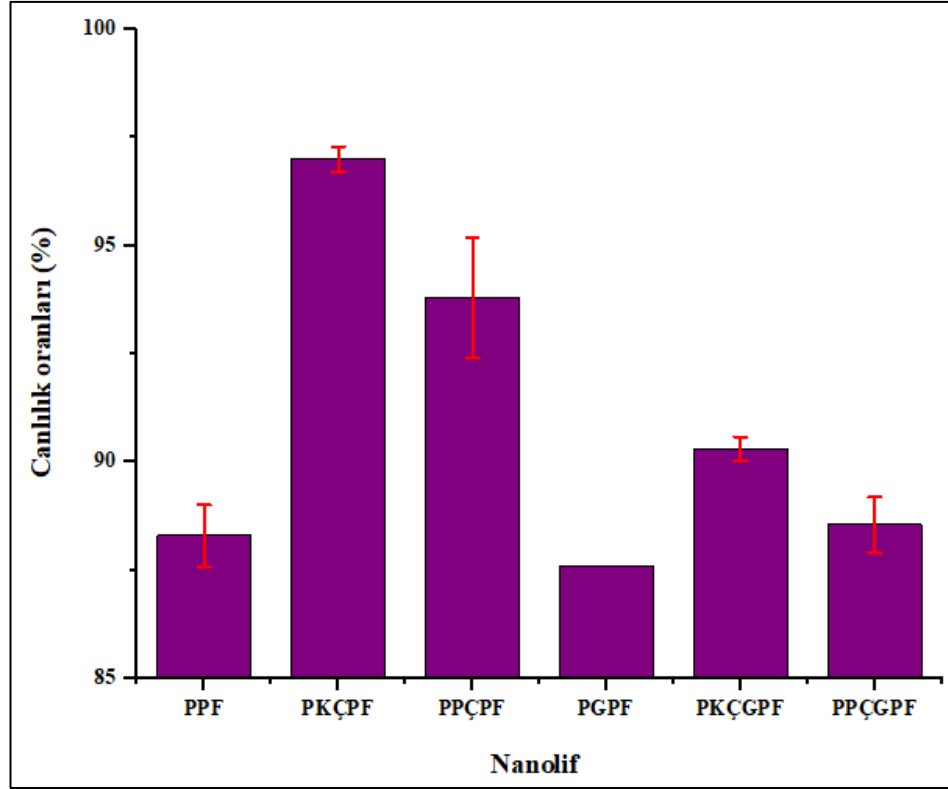
Aynı satırda örneklerin ortalama değerleri arasındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı küçük harflerle gösterilmiştir (^{a-b}). Tabloda yazılan hücre sayıları, polimer çözeltilerinden belli bir sürede üretilen nanoliflerde (mg) ve bu nanoliflerin üretiminde kullanılan toplam çözeltilerde (mL) tespit edilen *L. acidophilus* hücre sayılarını göstermektedir. Nanoliflerin ve polimer çözeltilerinin miktarları aynı değildir. PPF; pullulan/*L. acidophilus*, PKÇPF; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPF; pullulan/PÇF/*L. acidophilus*, PGPF; pullulan/gliseroL/*L. acidophilus*, PKÇGPF; pullulan/KÇF/gliseroL/*L. acidophilus*, PPÇGPF; pullulan/PÇF/gliseroL/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan nanoliflerin kodları. Sonunda "S" harfi bulunanlar ise bu nanoliflerin üretildikleri polimer çözeltileridir. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Enkapsülasyon amacıyla probiyotik *L. acidophilus* hücrelerini içeren polimer çözeltilerinin elektrospinning ile nanoliflere dönüştürülmesi sürecinde, hücrelerin canlılıklarında meydana gelen değişim incelendiğinde (Çizelge 4.10-4.11, Şekil 4.18); hücrelerin canlılıklarında işlem öncesine göre, önemli derecede düşüş meydana gelmekle birlikte gliserol içermeyen nanoliflerden PKÇPF'nin üretiminde hücrelerin canlılıklarının (%97), diğerlerine göre önemli derecede daha fazla korunduğu ve sadece pullulan yapı malzemesi ile enkapsülasyonda (PPF, canlılık oranı %88.30) diğerlerine göre, canlılık sayılarında daha yüksek oranda düşüş meydana geldiği görülmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.11 Polimer Çözeltilerinden *L. acidophilus* Hücresi İçeren Nanoliflerin Üretiminde Hücrelerin Canlı Kalma Oranları (%)

Nanolif	Canlılık (%)
PPF	88.30 ± 0.71 ^C
PKÇPF	97.00 ± 0.28 ^A
PPÇPF	93.78 ± 1.39 ^B
PGPF	87.60 ± 0.00 ^C
PKÇGPF	90.30 ± 0.28 ^C
PPÇGPF	88.55 ± 0.64 ^C

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasındaki istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($p < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-C}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). PPF; pullulan/*L. acidophilus*, PKÇPF; pullulan/KÇF/*L. acidophilus*, PPÇPF; pullulan/PÇF/*L. acidophilus*, PGPF; pullulan/gliseroL/*L. acidophilus*, PKÇGPF; pullulan/KÇF/gliseroL/*L. acidophilus*, PPÇGPF; pullulan/PÇF/gliseroL/*L. acidophilus* bileşimlerinden oluşan nanoliflerin kodları. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.18 Polimer Çözeltilerinden *L. acidophilus* Hücresi İçeren Nanoliflerin Üretiminde Hücrelerin Canlı Kalma Oranları

Gliserol içeren nanoliflerle enkapsüle *L. acidophilus* hücrelerinin üretiminde ise, aynı şekilde KÇF (kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları) ilavesiyle hücrelerin canlılıklarının daha fazla korunduğu ancak istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Bu durumun, polimer çözeltilerine KÇF ve PÇF ilavesiyle, KÇF'nin etkisi daha fazla olmak üzere, çözeltilerde fiziksel özelliklerden viskozite ile yüzey geriliminin önemli derecede düşmesi ve iletkenlik ile pH'nın önemli derecede artmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Çizelge 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5). Çünkü çözelti özelliklerinin iyileşmesi genel olarak nanolif üretimini ve enkapsülasyonu kolaylaştırmaktadır. Ma ve ark., (2021) gam Arabik/pullulan (20/80, w/w) yapı malzemelerini kullanarak, *L. acidophilus* hücrelerini elektrospinning tekniğiyle enkapsüle ettikleri çalışmalarında, bu çalışmadaki KÇF kullanımıyla benzer etkide, hücrelerin canlılıklarının önemli derecede korunduğunu (%96 canlılık oranı) bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, bu çalışmada da görüldüğü gibi, elektrospinning prosesi sonunda, diğer enkapsülasyon tekniklerine göre canlılık oranlarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte elektrospinning

ile enkapsülasyonda hücrelerin canlılıklarında meydana gelen düşüş, yüksek voltajın etkisinden (Feng ve ark., 2018; Duman ve Karadağ, 2021) ziyade işlem sırasında çözeltideki suyun hızlı bir şekilde buharlaşmasından dolayı ozmotik ortamda meydana gelen ciddi değişime bağlanmaktadır (Fung ve ark., 2011). Başka bir çalışmada Xu ve ark., (2022b) PVA/pektin kullanarak *L. rhamnosus* hücrelerini enkapsüle ettikleri çalışmalarında, pektin oranı arttıkça hücrelerin elektrospinning prosesinde canlılıklarının azaldığı ve bu durumun, pektin ilavesine bağlı olarak, polimer çözeltisinin pH değerinin düşmesi (4.99→3.88-3.17) ve viskozitenin artmasından kaynaklandığı; bununla birlikte %10 (w/w) oranında pektin ilavesinin ideal olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, ortamın pH değeri 4'ün altına düşünce laktik asit bakterilerinin stabiliteilerinin önemli derecede düştüğünü ve viskozitenin artmasıyla nanolif oluşumunun zorlaştığını bildirmektedirler (Xu ve ark., 2022b). Bu çalışmada ise, pektin içeren KÇF ve PÇF'nin ilavesiyle polimer çözeltilerinin pH değerleri yükselmiş ve viskozite değerleri düşmüştür. Ancak gliserol ve/veya probiyotik hücreler ile birlikte PÇF (pektin içeriği KÇF'ye göre yüksek) ilaveli çözeltilerde viskozite artmıştır.

Bu çalışmada pullulan polimer çözeltisine, önemli miktarlarda çözünür diyet lif içeriğine sahip, KÇF ve PÇF ilavesiyle *L. acidophilus* hücrelerinin elektrospinning ile enkapsülasyonda, canlılıklarının daha yüksek oranda korunmasının bir sebebinin, yukarıda da ifade edildiği gibi çözeltilerin bazı özelliklerinin iyileşmesi olabileceği, bir diğeri ise çözünür diyet liflerin (ÇDL) prebiyotik etkilerinden dolayı olabileceğidir. Feng ve ark., (2018) bu çalışmayla benzer olarak, PVA bazlı nanoliflerle probiyotik hücrelerin enkapsülasyonunda, polimer çözeltisine prebiyotik bir madde olan, fruktooligosakkarit ilavesiyle hücrelerin canlılıklarının 1.1 log kob daha fazla (bu çalışmada KÇF ve PÇF için sırasıyla, 0.86 ve 0.54 log kob) korunduğunu; Duman ve Karadağ (2021), ise inülin ilavesinin probiyotik hücrelerin canlılık sayılarında önemli bir farklılık oluşturmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da gliserol ile birlikte KÇF ve PÇF ilavesi yapıldığında diyet liflerin önemli etkilerinin görülmediği tespit edilmiştir.

4.4 Yoğurt Örneklerinde Yapılan Analizlerin Bulguları

4.4.1 Mikrobiyolojik Analizlerin Bulguları

4.4.1.1 *Lactobacillus acidophilus*'un Yoğurt Koşullarında Canlılık Sayıları

Enkapsülasyon işlemi probiyotik bakterileri fermente süt ürünleri ortamında, starter kültür ile besin rekabetinin yanı sıra, antagonistik etkileşimlerden korumaktadır (El Kadri ve ark., 2018). Yaptığımız çalışmada da bu yönde sonuçlar tespit edilmiştir. Çalışma verilerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerine ait *Lactobacillus acidophilus* sayı değerleri arasındaki farklılıklar örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli (Çizelge 4.12, $P<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.12 Yoğurt Örneklerinin *Lactobacillus acidophilus* Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

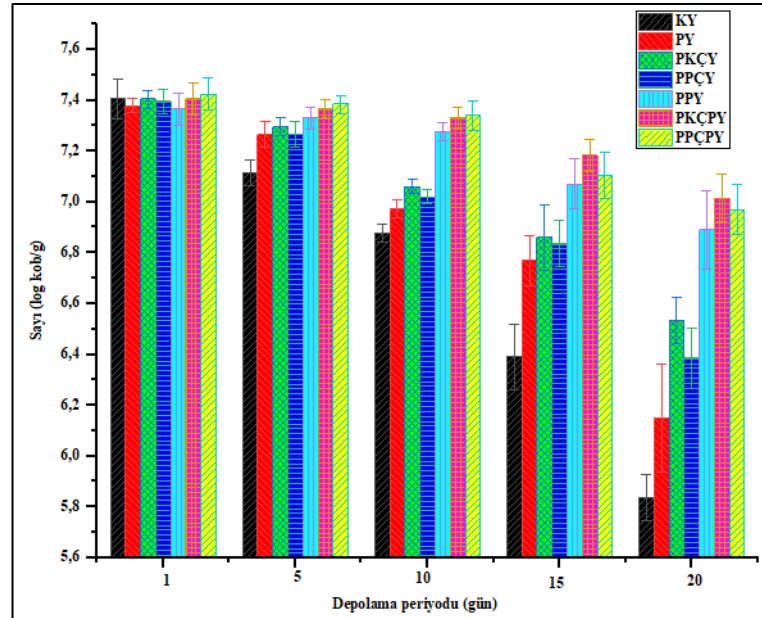
	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	2.32285	0.38714	57.00456	<0.0001
Depolama	4	6.57179	1.64295	241.91491	<0.0001
İnteraksiyon	24	1.48029	0.06168	9.08184	<0.0001
Model	34	10.37493	0.30515	44.93092	<0.0001
Hata	35	0.2377	0.00679		
Düzeltilmiş Toplam	69	10.61263			

Bu çalışmada tüm yoğurt örneklerinin probiyotik *L. acidophilus* hücre ortalama değerleri arasında depolamanın 1. gününde önemli bir farklılık görülmezken ($P>0.05$), depolamanın diğer günlerinde genel olarak nanoenkapsüle probiyotik hücreleri içeren örneklerde (PPY, PKÇPY, PPÇPY) diğer örneklere göre, önemli derecede daha yüksek *L. acidophilus* sayı değerleri tespit edilmiştir ($P<0.05$). Serbest probiyotik hücre içeren nanolif katkılı yoğurtların (PY, PKÇY, PPÇY) ise, nanolif içermeyen probiyotikli örneğe (KY, kontrol) göre, *L. acidophilus* sayılarının genel olarak önemli derecede daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.13, Şekil 4.19, $P<0.05$).

Çizelge 4.13 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen *Lactobacillus acidophilus* Ortalama Sayıları (log kob/g) ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama				
	1. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KY	7.405 ± 0.078 ^{Aa}	7.115 ± 0.052 ^{Bab}	6.875 ± 0.031 ^{Cb}	6.390 ± 0.137 ^{Cc}	5.835 ± 0.094 ^{Dd}
PY	7.380 ± 0.028 ^{Aa}	7.265 ± 0.049 ^{ABa}	6.975 ± 0.037 ^{BCab}	6.770 ± 0.099 ^{BCb}	6.150 ± 0.210 ^{CDc}
PKÇY	7.405 ± 0.035 ^{Aa}	7.295 ± 0.038 ^{ABa}	7.060 ± 0.029 ^{Bbc}	6.860 ± 0.128 ^{ABc}	6.535 ± 0.093 ^{ABCd}
PPÇY	7.395 ± 0.049 ^{Aa}	7.265 ± 0.049 ^{ABab}	7.020 ± 0.028 ^{BCbc}	6.835 ± 0.092 ^{ABc}	6.385 ± 0.134 ^{BCd}
PPY	7.365 ± 0.064 ^{Aa}	7.330 ± 0.042 ^{Aa}	7.275 ± 0.035 ^{Aa}	7.070 ± 0.098 ^{ABab}	6.890 ± 0.156 ^{ABb}
PKÇPY	7.405 ± 0.060 ^{Aa}	7.365 ± 0.030 ^{Aa}	7.330 ± 0.042 ^{Aa}	7.185 ± 0.064 ^{Aa}	7.015 ± 0.102 ^{Ab}
PPÇPY	7.425 ± 0.064 ^{Aa}	7.385 ± 0.035 ^{Ab}	7.340 ± 0.057 ^{Ab}	7.105 ± 0.113 ^{ABbc}	6.970 ± 0.107 ^{Ac}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$) farklı büyük harflerle (^{A-D}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise aynı satırda farklı küçük harflerle (^{a-d}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.19 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, *Lactobacillus acidophilus* Ortalama Sayılarındaki Değişim

Depolama periyodu süresince ise tüm örneklerde *L. acidophilus* sayılarında genel olarak istatistiksel açıdan önemli bir düşüş ($P < 0.05$) tespit edilmekle birlikte 20 günlük depolama periyodu sonunda, en fazla düşüş sadece serbest *L. acidophilus* hücreleri içeren kontrol örneğinde (KY) görülmüştür (1.57 log kob/g). Sonra, serbest *L. acidophilus* hücreleriyle birlikte nanolif içerenlerde görülmüştür (PY, PKÇY ve PPÇY için sırasıyla, 1.23, 0.87 ve 1.01 log kob/g). Nanoliflerle enkapsüle edilen *L. acidophilus* probiyotik hücrelerini içeren örneklerde (PPY, PKÇPY ve PPÇPY için

sırasıyla, 0.47, 0.39 ve 0.45 log kob/g) ise, diğerlerine göre daha az bir düşüş bulunmuştur. Bu durum, *L. acidophilus* hücrelerinin nanoliflerle enkapsüle edilmesinin, organik asitler ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi yoğurdun fermentasyonu ve depolama sürecinde starter kültür tarafından üretilen, büyümeyi engelleyici bileşiklerin difüzyon hızını yavaşlatmış olabileceğini (Sandoval-Castilla ve ark., 2010) ve nanoliflerin yapısında bulunan pullulan (Mishra ve ark., 2022), pektin (Martin-Cabrejas ve ark., 1995; Macagnan ve ark., 2015) ve çözümlü hemiselüloz (Chen ve ark., 2020) gibi prebiyotik ve biyoaktif özelliklere sahip bileşiklerin, *L. acidophilus* hücrelerinin aktivitesi üzerinde olumlu etkiler yapmış olabileceğini düşündürmektedir. Ghorbani ve Maryam (2021), mısır nişastası ve sodyum aljinat bazlı nanoliflerle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerini enkapsüle ederek yoğurt ortamında canlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında, bu çalışmayla benzer olarak yoğurt örneklerinin depolama periyodunda, nanoenkapsüle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin serbest hücrelere göre canlılıklarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yoğurdun 20 günlük depolama periyodu sonunda nanoenkapsüle *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. sayılarının sırasıyla 0.19 (%97.9 canlılık) ve 0.28 (%96.9 canlılık) log kob/g azaldıklarını, serbest hücrelerde ise 1.12 (%87.7 canlılık) ve 1.25 (%86.3 canlılık) log kob/g sayılarda hücre kayıpları meydana geldiği bildirilmiştir. Yılmaz ve ark., (2020) da yaptıkları çalışmada, bu çalışmayla benzer olarak, polivinil alkol/sodyum aljinat bazlı nanoliflerde enkapsüle ettikleri probiyotik hücrelerin, kefir ortamında 21 günlük depolama sonunda, serbest hücrelere göre 0.73 log kob/g daha fazla canlılık sayısına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Literatürde bu çalışmanın probiyotik hücrelerin canlılık oranlarıyla ilgili sonuçlarını destekleyen, nanoenkapsülasyonla ilgili çalışmaların dışında, mikroenkapsülasyonla ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Kailasapathy (2006), çalışmasında aljinat ve nişasta bazlı mikroenkapsüle *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis* probiyotik hücrelerin (yaklaşık 2 log kob/mL), yoğurt ortamında 7 haftalık depolama periyodu sonunda, serbest hücrelere (sırasıyla 4 ve 3 log kob/mL) oranla canlılık kayıplarının daha düşük olduğunu bildirmiştir. Afzaal ve ark., (2019) çalışmalarında mikroenkapsüle probiyotik hücrelerde (Sodyum aljinat ve karagenan mikrokapsülleri için sırasıyla 1.17 ve 1.5 log kob/mL azalma), yoğurt ortamında 28 günlük depolama periyodunda,

canlılık kayıplarının serbest hücrelere (3.85 log kob/mL azalma) göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Frakolaki ve ark., (2021) çalışmalarında farklı enkapsülasyon yöntemleriyle ürettikleri farklı katkı maddeli sodyum aljinat bazlı mikroenkapsüle *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* hücrelerinin (ortalama 3.5 log kob/g), yoğurt ortamında 30 günlük depolama periyodu sonunda, canlılık kayıplarının serbest hücrelere (4.9 log kob/g) göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Pour ve ark., (2022) çalışmalarında çok katmanlı emülsiyon yöntemiyle üretilen mikroenkapsüle probiyotik hücrelerde (*Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus plantarum*) (sırasıyla, 0.1 ve 0.14 log kob/mL) yoğurt ortamında 21 günlük depolama sonunda, serbest hücrelere (sırasıyla, 0.78 ve 0.77 log kob/mL) göre, canlılık kayıplarının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada olduğu gibi yukarıda özetlenen çalışmalarda da probiyotik hücrelerin, enkapsülasyonla olumsuz gıda koşullarında daha fazla korunabildikleri ancak bu çalışmada tespit edilen probiyotik hücrelere ait sayısal sonuçların, literatürde yer alan çalışma sonuçlarından farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılıkların bazı sebepleri şunlar olabilir: Kapsülasyon yöntem veya koşullarının, kapsülasyon yapı malzemelerinin, kullanılan probiyotik hücrelerin, probiyotik hücrelerin salınım hızlarının, ürünlerin depolama koşulları ve sürelerinin farklı olmasıdır.

Ayrıca bu çalışmada, nanoenkapsüle probiyotik hücreleri içeren yoğurt örneklerinde hücre sayılarında, depolamanın 10. gününden sonra daha fazla bir düşüş görülmektedir. Bu durum, nanoliflerin 10. günden sonra daha fazla çözünerek, hücrelerin daha yüksek sayıda serbest hale geçmesinden kaynaklanmış olabilir. Çalışmada pullulan-KÇF/PÇF bazlı nanoliflerin, sulu ortamda hızlı çözündükleri görülmüştür. Dolayısıyla nanoenkapsüle probiyotik hücre ilaveli yoğurtların üretiminde çok daha yavaş çözündükleri için gliserol içeren nanolifler kullanılmıştır. Yine de gliserol katkılı nanoliflerin, yoğurt ortamında zamanla çözündükleri görülmüştür. Dolayısıyla bu çalışmada, gliserol katkılı pullulan, pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF bazlı nanoliflerde enkapsüle şekilde bulunan *L. acidophilus* hücrelerinin, yoğurt ortamına yavaş bir şekilde salındıklarını söyleyebiliriz. Depolamanın ilerleyen günlerinde, pullulan ve meyve endüstriyel atıklarının suda çözünür kısımlarından (pektin, hemiselüloz, monosakkarit, sakkaroz, mineraller vs.) (KÇF ve PÇF) üretilen, probiyotik hücre bulduran veya buldurmeyen,

nanoliflerin ilave edildiği yoğurtlarda *L. acidophilus* sayılarının, yapı malzemesi olarak sadece pullulan içeren nanolif ilaveli örneklere göre, daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir. Dolayısıyla meyve posalarının çözünür kısımlarının, probiyotik hücreler üzerinde pullulana göre, daha fazla olumlu etkilere sahip oldukları söylenebilmektedir. Bu bağlamda Sandoval-Castilla ve ark. (2010) çalışmalarında, aljinat-pektin ile mikroenkapsülasyonun, yoğurt ortamında *Lactobacillus casei* hücrelerinin canlılıklarını, aljinat bazlı mikroenkapsülasyona göre, daha fazla koruduğunu bildirmişlerdir. *Lactobacillus plantarum* hücrelerinin, yapı malzemesi olarak pektin ve sodyum aljinatın farklı oranları ve formları kullanılarak, mikroenkapsüle edilip, buzdolabı sıcaklığında depolandığı çalışmada da sadece pektin kullanılarak üretilen mikrokapsüllerde, hücrelerde görülen canlılık kayıplarının diğer mikrokapsül ortamlarına göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Brinques ve Ayub, 2011).

Bir diğer konu; probiyotik mikroorganizmaların terapötik etkilerinin görülebilmesi için vücuda alınan probiyotikli gıdaların tüketim anında 10^6 - 10^9 kob/g probiyotik hücre içermesi gerektiğidir (Szajewska ve ark., 2006). Bu bağlamda kontrol örneği (KY), depolamanın 20. gününde olması gereken hücre sayısı içeriğinden daha düşük bir değere (5.83 log kob/g) sahip olduğu için probiyotikli yoğurt sınıfına girmemektedir. Nanolif ilaveli tüm yoğurtların ise, depolama süresince, probiyotikli gıda tanımına uyduğu görülmektedir ($>10^6$ kob/g). Mortazavian ve ark., (2007)'nin çalışmasında da serbest halde yoğurt ortamında bulunan *L. acidophilus* hücrelerinin, yoğurdun 5 ve 8°C sıcaklıklarda depolanması sürecinin sonunda (20. gün), 7.41 log kob/g başlangıç değerinden, bu çalışmada olduğu gibi, 10^6 kob/g sayı değerinin altına düştüğünü (sırasıyla, 5.44 ve 5.77 log kob/g) bildirmişlerdir.

4.4.1.2 Yoğurt Örneklerinde *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* Sayıları

Lactobacillus bulgaricus ve *Streptococcus thermophilus* simbiyotik etkilerinden dolayı birlikte yoğurt üretiminde starter kültür olarak en yaygın kullanılan laktik asit bakterilerindendirler (Yıldız ve Ozcan, 2018). Yapılan çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerine ait *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* değerleri

arasındaki farklılıklar örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli bulunmuştur (Çizelge 4.14, $P<0.05$).

Çizelge 4.14 Yoğurt Örneklerinin *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* Sayılarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

		Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
<i>L. bulgaricus</i>	Örnek	6	0.08915	0.01486	21.62439	<0.0001
	Depolama	4	0.10282	0.0257	37.40852	<0.0001
	İnteraksiyon	24	0.20076	0.00837	12.1736	<0.0001
	Model	34	0.39273	0.01155	16.8102	<0.0001
	Hata	35	0.02405	6.87143E-4		
	Düzeltilmiş Toplam	69	0.41678			
<i>S. thermophilus</i>	Örnek	6	0.28371	0.04729	17.83405	<0.0001
	Depolama	4	0.27731	0.06933	26.14682	<0.0001
	İnteraksiyon	24	0.17821	0.00743	2.8006	0.00275
	Model	34	0.73923	0.02174	8.20018	<0.0001
	Hata	35	0.0928	0.00265		
	Düzeltilmiş Toplam	69	0.83203			

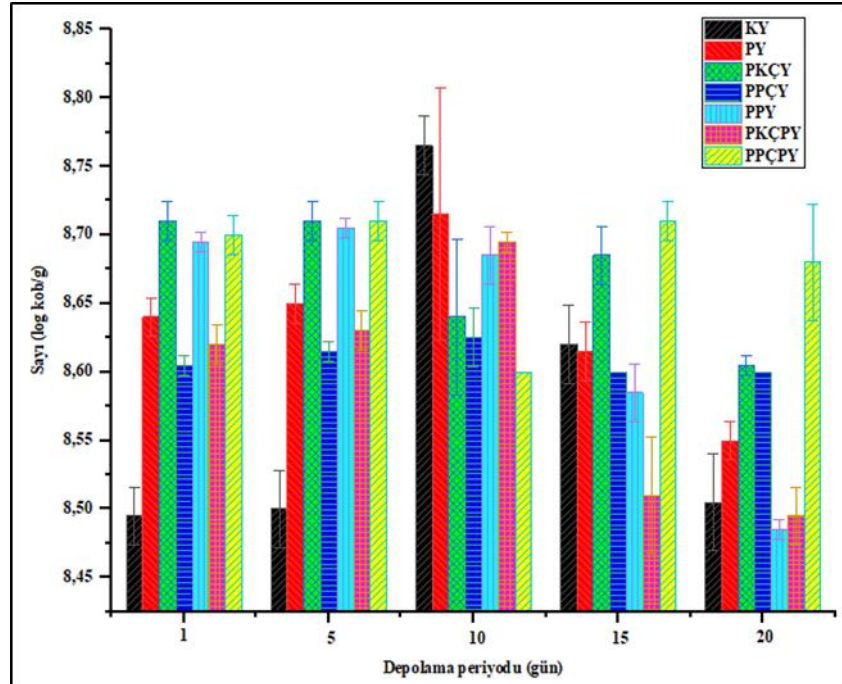
Bu çalışmada, depolamanın 10. günü hariç diğer günlerde, örneklerin *Lactobacillus bulgaricus* sayı değerleri arasında genel olarak önemli farklılıklar görülmektedir ($P<0.05$, Çizelge 4.15, Şekil 4.20). Ayrıca 10 ve 15. günler haricinde, kontrol örneğinin (KY) *L. bulgaricus* hücre sayı değerleri (8.49-8.50 log kob/g), diğer örneklere göre genel olarak daha düşük bulunmuştur.

Depolama periyodu süresince ise; nanolif ile birlikte serbest probiyotik hücre içeren örneklerin (PY, PKÇY ve PPCY) *L. bulgaricus* hücre sayılarında önemli bir değişim görülmemektedir ($P>0.05$). Nanoenkapsüle probiyotik hücre içeren PPY ve PKÇPY örneklerinde, genel olarak depolamanın 10. gününe kadar önemli bir değişim görülmemekte ve 10. günden sonra *L. bulgaricus* sayı değerlerinde bir miktar düşüş görülmektedir. PPCPY örneğinde ise, depolamanın 10. gününde önemli miktarda bir düşüş yaşanmış ve diğer günlerde tekrar yükseliş meydana gelmiştir.

Çizelge 4.15 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen *Lactobacillus bulgaricus* Ortalama Sayı Değerleri (log kob/g) ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama				
	1. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KY	8.495 ± 0.025 ^{Dc}	8.500 ± 0.035 ^{Cc}	8.765 ± 0.027 ^{Aa}	8.620 ± 0.028 ^{ABCb}	8.505 ± 0.035 ^{Cc}
PY	8.640 ± 0.018 ^{BCa}	8.650 ± 0.021 ^{ABa}	8.715 ± 0.112 ^{Aa}	8.615 ± 0.022 ^{ABCa}	8.550 ± 0.014 ^{BCa}
PKÇY	8.710 ± 0.014 ^{Aa}	8.710 ± 0.015 ^{Aa}	8.640 ± 0.057 ^{Aa}	8.685 ± 0.021 ^{ABa}	8.605 ± 0.007 ^{ABa}
PPÇY	8.605 ± 0.017 ^{Ca}	8.615 ± 0.017 ^{Ba}	8.625 ± 0.042 ^{Aa}	8.600 ± 0.012 ^{BCDa}	8.595 ± 0.012 ^{ABa}
PPY	8.695 ± 0.007 ^{ABa}	8.705 ± 0.008 ^{Aa}	8.685 ± 0.033 ^{Aa}	8.585 ± 0.022 ^{CDb}	8.485 ± 0.008 ^{Cc}
PKÇPY	8.620 ± 0.024 ^{Ca}	8.630 ± 0.014 ^{Ba}	8.695 ± 0.013 ^{Aa}	8.510 ± 0.042 ^{Db}	8.495 ± 0.022 ^{Cb}
PPÇPY	8.700 ± 0.015 ^{Aa}	8.710 ± 0.032 ^{Aa}	8.600 ± 0.083 ^{Ab}	8.710 ± 0.014 ^{Aa}	8.680 ± 0.042 ^{Aab}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-D}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.20 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, *Lactobacillus bulgaricus* Ortalama Sayılarındaki Değişim

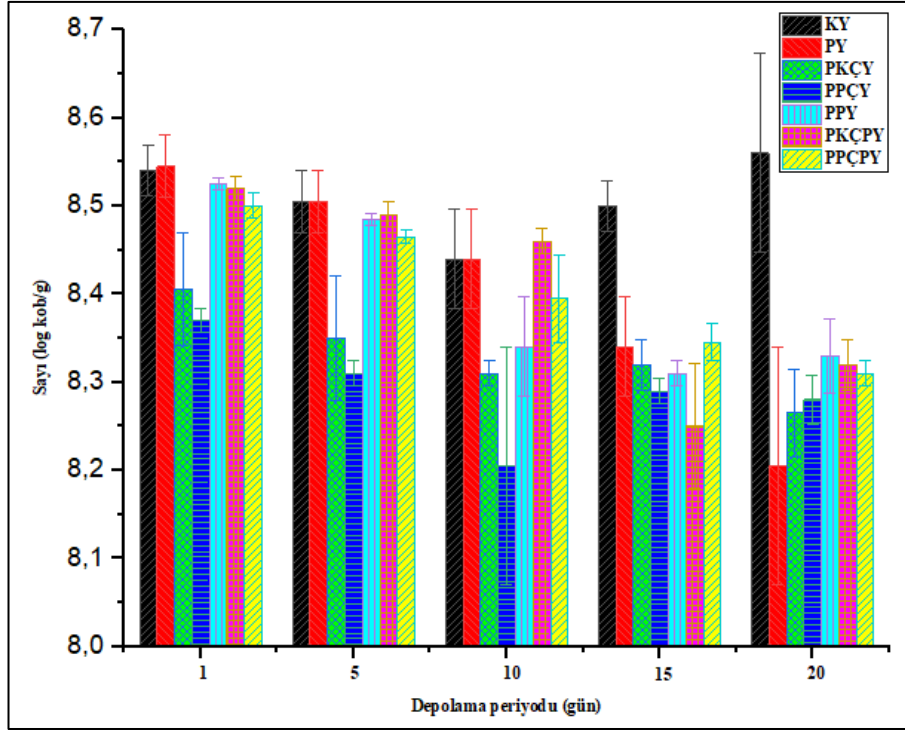
Çizelge 4.16 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Belirlenen *Streptococcus thermophilus* Ortalama Sayıları (log kob/g) ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama				
	1. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KY	8.540 ± 0.028 ^{Aa}	8.505 ± 0.036 ^{Aa}	8.440 ± 0.057 ^{Aa}	8.500 ± 0.028 ^{Aa}	8.560 ± 0.113 ^{Aa}
PY	8.545 ± 0.035 ^{Aa}	8.503 ± 0.034 ^{Aa}	8.440 ± 0.056 ^{Aab}	8.340 ± 0.056 ^{Bab}	8.205 ± 0.134 ^{Bb}
PKÇY	8.405 ± 0.064 ^{BCa}	8.350 ± 0.071 ^{BCa}	8.310 ± 0.015 ^{Aa}	8.320 ± 0.028 ^{Ba}	8.265 ± 0.049 ^{Ba}
PPÇY	8.370 ± 0.012 ^{Ca}	8.310 ± 0.014 ^{Ca}	8.205 ± 0.134 ^{Aa}	8.290 ± 0.016 ^{Ba}	8.280 ± 0.028 ^{ABa}
PPY	8.525 ± 0.007 ^{ABa}	8.485 ± 0.007 ^{Aa}	8.340 ± 0.056 ^{Ab}	8.310 ± 0.014 ^{Bb}	8.330 ± 0.042 ^{ABb}
PKÇPY	8.520 ± 0.017 ^{ABa}	8.490 ± 0.014 ^{Aa}	8.460 ± 0.014 ^{Aab}	8.250 ± 0.071 ^{Bc}	8.320 ± 0.028 ^{ABc}
PPÇPY	8.500 ± 0.014 ^{ABa}	8.465 ± 0.012 ^{ABab}	8.395 ± 0.049 ^{Abc}	8.345 ± 0.021 ^{Bc}	8.310 ± 0.014 ^{ABc}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-C}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Yoğurt örneklerinin *Streptococcus thermophilus* sayı değerleri arasında da depolamanın 10. günü hariç, genel olarak önemli farklılıklar görülmekte ($P < 0.05$) ve yukarıda ifade edildiği gibi, kontrol örneğinin (KY) *L. bulgaricus* sayı değerleri, diğer örnekler göre genel olarak daha düşük iken, *S. thermophilus* sayı değerlerinin genel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.16, Şekil 4.21). Ayrıca kontrol örneğinin (KY) *S. thermophilus* sayı değerleri, önemli olmamakla birlikte, depolamanın 10. gününe kadar düşmüş ve sonraki günlerde yükselerek, depolama sonunda en yüksek değerine (8.56) ulaşmıştır. Diğer örneklerde (nanolif ve nanoenkapsüle probiyotik içerenler) ise, depolama süresince bazı örnekler için önemli, bazıları için önemli olmayacak seviyelerde, *S. thermophilus* sayı değerlerinde genel olarak düşüş meydana gelmiştir.

Farklı bileşime sahip nanolif ve nanoenkapsüle probiyotik hücre içeren örneklerin depolama süresince *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayı değerlerine bakıldığında; sürekli yükseliş veya düşüş şeklinde belirgin bir eğilimin olmadığı görülmektedir. Dolayısıyla bu çalışma için probiyotik hücre içeren ve içermeyen nanoliflerin, yoğurt starter kültürleri üzerinde, birbirlerinden farklı etkiler oluşturduklarını veya farklı etkiler varsa da bu etkilerin birbirlerine göre ne yönlü olduğunu tespit etmenin zor olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.21 Yoğurt Örneklerinin, Depolama Periyodu Süresince, *Streptococcus thermophilus* Ortalama Sayı Değerlerinde Meydana Gelen Değişim

Literatürde nanolif katkılı yoğurtlarda *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* ile ilgili bir analiz verisi olmadığından, bu çalışmayla benzer olabilecek çalışmaların sonuçlarıyla kıyaslama yapılmıştır. El Kadri ve ark., (2018) probiyotik hücreleri emülsiyon yöntemiyle enkapsüle ederek ve kontrol olarak serbest halde yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında, enkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneğinde, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayı değerlerinde meydana gelen değişmelerin, depolama süresince, belli bir yönde olmadığı (sürekli artış veya düşüş) ve dolayısıyla bu çalışmada da olduğu gibi, enkapsüle probiyotik hücrelerin *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* üzerindeki etkilerinin, depolama açısından, belirgin olmadığı görülmektedir. Ayrıca araştırmacılar, depolama sonunda, bu çalışmayla benzer olarak, kontrol örneğinde daha fazla düşüş olmakla birlikte, tüm yoğurt örneklerinde *L. bulgaricus* sayı değerlerinin diğer günlere göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Pour ve ark., (2022) çok katmanlı emülsiyon yöntemiyle üretilen mikroenkapsüle probiyotik hücrelerin, yoğurt ortamında canlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında, kontrol örneklerinin *S. thermophilus* değerlerinde meydana gelen değişimler hariç, bu çalışmayla benzer olarak, depolama sonunda serbest probiyotik

hücre içeren kontrol örneğinde daha fazla olmak üzere, yoğurt örneklerinin *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayı değerlerinde genel olarak düşüş meydana geldiğini ve bu durumun, pH'da meydana gelen düşüş ve laktik asit değerlerinde meydana gelen artışla ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da depolama süresince pH değerlerinin düştüğü ve asit değerlerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Ismail ve ark., (2023) sodyum aljinat/peyniraltı suyu proteinleriyle *L. acidophilus* hücrelerini enkapsüle ederek, pıhtısı kırılmış yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında, tüm yoğurt örneklerinde *L. delbruekii* subsp. *bulgaricus* hücrelerinin depolamanın 15. gününde en yüksek sayı değerlerine ulaştıklarını ve 20. günde bir miktar düştüğünü ve hücre sayısının kontrol örneğinde, diğerlerine göre daha düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da benzer olarak, örneklerin *L. bulgaricus* sayı değerlerinde 10. güne kadar genelde bir artış ve sonra ise düşüş görülmüş ve kontrol örneğinde (KY), depolamanın 10 ve 15. günleri hariç, hücre sayılarının diğer örneklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, *L. bulgaricus* sayı değerlerinin, depolamanın başında ve sonunda, bu çalışmada olduğu gibi, *S. thermophilus*'a göre genel olarak daha yüksek olduğu da görülmektedir. Başka bir çalışmada Şeregelj ve ark., (2021) havuç endüstriyel atığı ekstraktlarını aljinat ile mikroenkapsüle ederek, yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında, bu çalışmayla benzer olarak, mikrokapsül içermeyen örnekte (kontrol) *L. bulgaricus* sayı değerlerinde, mikrokapsül içeren örneklerde ise *S. thermophilus*'da daha fazla olmak üzere, depolama süresince *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* sayı değerlerinin genel olarak düştüğünü bildirmişlerdir.

Michael ve ark., (2010)'nın çalışmalarında da bu çalışmayla benzer olarak, bitki ekstraktı ilaveli yoğurtlarda, depolama süresince *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* sayısında genel olarak düşüş meydana geldiği ve kontrol olarak bitki ekstraktı içermeyen örnekte, bitki ekstraktı içeren örneklere göre, *S. thermophilus* sayılarının depolama süresince genel olarak daha yüksek; *L. bulgaricus* sayılarının ise daha düşük olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla bitki ekstraktı ilavesinin *L. bulgaricus* üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada da prebiyotik özelliklere sahip bileşiklerden oluşan nanoliflerin yoğurt ortamında benzer etkiler oluşturduğu tespit edilmiştir. Erkaya Kotan (2020)'nin çalışmasında da farklı oranlarda portakal diyet lifi ilaveli yoğurtlarda *S. thermophilus* sayısının, bu

çalışmada olduğu gibi depolama süresince diyet lif ilavesiz yoğurt örneğinden (kontrol) daha düşük olduğunu bildirmiştir. Yıldız ve Özcan (2018) da çalışmalarında, farklı bitki diyet liflerini ilave ettikleri yoğurt örneklerinde depolama süresince *S. thermophilus* sayı değerlerinin, diyet lif içermeyen kontrol örneğine göre genel olarak daha düşük; *L. bulgaricus* sayı değerlerinin ise, kontrol örneğine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yoğurt örneklerinin *S. thermophilus* sayı değerlerinin genel olarak, *L. bulgaricus*'a göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun bir sebebi olarak, *L. bulgaricus*'un yüksek oksijen duyarlılığı gösterilmektedir. Bu çalışmada kontrol örneği (KY) için de bu durumun, genel olarak geçerli olduğu söylenebilir. Çünkü KY örneğinde depolama süresince, *S. thermophilus* sayı değerleri genel olarak artmış ve depolama sonunda *L. bulgaricus*'a göre daha yüksek sayıda olduğu görülmektedir (Sırasıyla, 8.56 ve 8.50). Nanolif ve nanoliflerle enkapsüle probiyotik hücreleri içeren yoğurt örneklerinde ise, kontrolden farklı olarak *L. bulgaricus* sayısının, *S. thermophilus*'a göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bakry ve ark., (2019) omega-3 yağ asitlerince zengin yağları yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında, bu çalışmada olduğu gibi *L. bulgaricus* sayısının, *S. thermophilus*'a göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da nanoliflerin yapısında yağların yapı taşı olan gliserol bulunduğundan gliserolün, *S. thermophilus* hücreleri üzerinde olumsuz etkiye sahip olabileceği veya nanoliflerde bulunan prebiyotik özellikteki bileşenlerin, *S. thermophilus*'a göre, *L. bulgaricus* hücreleri üzerinde daha yüksek oranda olumlu etkiler oluşturduğu söylenebilir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne ve Kodeks Alimentarius'a göre yoğurtta spesifik mikroorganizma sayısının en az 10^7 kob/g olması gerektiği belirtilmiştir (Codex, 2011; Anonim, 2022). Bu açıdan çalışmada üretilen yoğurt örneklerinin (*L. acidophilus* ve *S. thermophilus* sayıları sırasıyla, 8.48-8.76 ve 8.20-8.56 log kob/g arasındadır) anılan mevzuatlara uygun olduğu söylenebilir.

4.4.1.3 Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Sayısı

Maya ve küf sayıları, yoğurdun raf ömrünün ve kalitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Bakry ve ark., 2019). Bu çalışmada hijyenik ve steril koşullar altında üretilen enkapsüle şekilde probiyotik hücreleri içeren ve içermeyen nanolifler, aynı koşullarda üretilen pıhtısı kırılmış yoğurtlara ilave edilmiş

ve bu yoğurt örnekleri, hava almayacak şekilde kapatıldıktan sonra buzdolabı sıcaklığında (+4°C) 20 gün depolanmıştır. Depolama süresince belirli günlerde (1, 5, 10, 15 ve 20. gün) yapılan maya-küf analizi sonuçlarına göre yoğurt örneklerinde maya-küf sayısının tespit edilebilecek düzeylerde (<1 log kob/g) olmadığı görülmüştür. Bu durum, yoğurt örneklerinde maya ve küf kontaminasyonu olmadığını veya az sayıda kontaminasyon olsa bile, aerobik ve mezofilik özellikteki maya ve küflerin, hava almayacak şekilde ambalajlanan ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilen yoğurt örneklerinde çoğalamadıklarını göstermektedir (Karam ve ark., 2020). Bu çalışmayla benzer olarak, Hematyar ve ark., (2012) gam maddeleri içeren yoğurt örneklerinde, Ertem ve Çakmakçı (2018), probiyotik yoğurt örneklerinde, depolama süresince maya ve küf tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

4.4.1.4 Yoğurt Örneklerinde Bulunan Probiyotik *L. acidophilus*'un İnvitro Gastrointestinal Koşullarda Canlılık Sayıları

Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemde geçiş sırasında canlı kalabilmeleri sağlık açısından oldukça önemli görülmektedir. Nano-enkapsülasyonun, gastrointestinal geçiş sırasında probiyotiklerin terapötik sayılarda canlı kalmalarını sağladığı bildirilmektedir (Fareed ve ark., 2022).

Bu çalışmada, serbest probiyotik *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini içeren kontrol örneği (KY) ile birlikte *L. acidophilus* + nanolif içeren (PY, PKÇY ve PPÇY) ve nanoliflerde enkapsüle şekilde bulunan *L. acidophilus* hücrelerini içeren (PPY, PKÇPY ve PPÇPY) yoğurt örnekleri, depolama periyodunun 1, 10 ve 20. günlerinde invitro olarak önce mide, sonra bağırsak koşullarına tabi tutulmuş ve her bir depolama periyodunun başlangıcındaki ve invitro koşullardan sonraki hücre sayıları tespit edilmiştir (Ek 1). Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin in vitro gastrointestinal koşullara tabi tutulması sonucunda, her bir depolama periyodunun başlangıç değerlerine göre, *L. acidophilus* ortalama sayılarında meydana gelen düşüşler ve hücrelerinin canlı kalma yüzdeleri arasındaki farklılıkların örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli olduğu görülmüştür (Çizelge 4.17, P<0.05).

Çizelge 4.17 İn vitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde *Lactobacillus acidophilus* Sayılarında Meydana Gelen Düşüş Değerlerine (log kob/g) ve Hücrelerin Canlı Kalma Oranlarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri	
Log kob/g	Örnek	6	9.93128	1.65521	74.32004	<0.0001
	Depolama	2	3.26675	1.63337	73.33943	<0.0001
	İnteraksiyon	12	2.51932	0.20994	9.42657	<0.0001
	Model	20	15.71735	0.78587	35.2859	<0.0001
	Hata	21	0.4677	0.02227		
	Düzeltilmiş Toplam	41	16.18505			
%	Örnek	6	2771.29581	461.88264	135.70504	<0.0001
	Depolama	2	1454.04091	727.02045	213.60478	<0.0001
	İnteraksiyon	12	198.6127	16.55106	4.86284	7.96529E-4
	Model	20	4423.94942	221.19747	64.98969	<0.0001
	Hata	21	71.47513	3.40358		
	Düzeltilmiş Toplam	41	4495.42455			

Çalışmada, depolama periyodunun 1 ve 10. günlerinde örneklere uygulanan in vitro koşullar sonucunda *L. acidophilus* hücrelerinde meydana gelen düşüşün, genel olarak KY örneğinde önemli derecede daha fazla olduğu; sonra, nanolif içeren PY, PKÇY ve PPÇY örneklerinde fazla olduğu; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren PPY, PKÇPY ve PPÇPY örneklerinde ise, diğerlerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.18, P<0.05). Depolamanın 20. gününde de aynı durum görülmüş ancak örneklerin *L. acidophilus* hücrelerinde meydana gelen düşüş miktarları arasında, istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir (P>0.05). Depolama periyodunun etkisi incelendiğinde; kontrol örneğinde (KY) ve serbest hücrelerle birlikte nanolif içeren örneklerde invitro koşullar sonucu, *L. acidophilus* hücrelerinde meydana gelen düşüş miktarlarının üzerinde depolama periyodunun önemli etkisinin olmadığı görülmüştür (P>0.05). Bununla birlikte nanoenkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren örneklerden PPÇPY’de invitro koşulların uygulanmasıyla *L. acidophilus* hücrelerinde meydana gelen düşüş miktarlarının, depolama periyodu süresince önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (P<0.05). Diğer iki örnekte (PPY ve PKÇPY) de benzer durum söz konusu olmakla birlikte depolamanın 10 ve 20. günlerinde invitro koşulların uygulanması sonucunda, hücrelerde meydana gelen düşüş miktarları arasındaki farklılığın, istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.18 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde *L. acidophilus* Sayılarında Meydana Gelen Düşüş Ortalama Değerleri (log kob/g) ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	3.610 ± 0.014 ^{Aa}	3.760 ± 0.085 ^{Aa}	3.540 ± 0.056 ^{Aa}
PY	3.140 ± 0.071 ^{ABa}	3.325 ± 0.177 ^{Aa}	3.135 ± 0.191 ^{Aa}
PKÇY	3.170 ± 0.057 ^{ABa}	3.480 ± 0.212 ^{Aa}	3.325 ± 0.163 ^{Aa}
PPÇY	2.885 ± 0.035 ^{Ba}	3.295 ± 0.106 ^{Aa}	3.215 ± 0.148 ^{Aa}
PPY	1.570 ± 0.028 ^{Cb}	2.615 ± 0.049 ^{Ba}	2.895 ± 0.205 ^{Aa}
PKÇPY	1.640 ± 0.184 ^{Cb}	2.620 ± 0.071 ^{Ba}	2.940 ± 0.184 ^{Aa}
PPÇPY	1.680 ± 0.311 ^{Cb}	2.635 ± 0.078 ^{Bab}	2.885 ± 0.233 ^{Aa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-C}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-b}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Nanoenkapsüle şekilde probiyotik hücreleri içeren yoğurt örneklerinde (PPY, PKÇPY ve PPÇPY) gastrointestinal koşulların uygulanmasıyla *L. acidophilus* hücrelerinde meydana gelen düşüş miktarlarının, depolamanın ilerleyen günlerinde daha yüksek olmasının, nanoliflerin zamanla çözünmesi ve probiyotik hücrelerin zamanla yoğurt ortamında serbest hale geçmeleriyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Serbest halde probiyotik hücre ve nanolif içeren örneklerde (PY, PKÇY ve PPÇY) invitro koşullar uygulanmasının, hücre sayılarında meydana getirdiği düşüşün, kontrol örneğine (KY) göre daha düşük olmasının sebepleri olarak, uygulama sırasında yoğurtlardaki nanoliflerin çözünerek, jelimsi yapılaraya dönüşmesi ve bu jel yapıların, hücreler üzerine çökerek (uygulama sırasında bu durum gözlemlenmiştir), onları gastrointestinal koşullara karşı koruması ve nanolifleri oluşturan prebiyotik özellikteki bileşenlerin (pullulan ve pektin vs.) olumlu etkileri görülmektedir. Çünkü genel olarak prebiyotik bileşikler, probiyotik bakterilerin büyümesi için karbon ve azot kaynakları sağlamakta ve böylece, hücrelerin gelişerek, gastrointestinal koşullardan olumsuz yönde daha az etkilenmelerini sağlamaktadırlar (Krasaekoopt ve Watcharapoka, 2014).

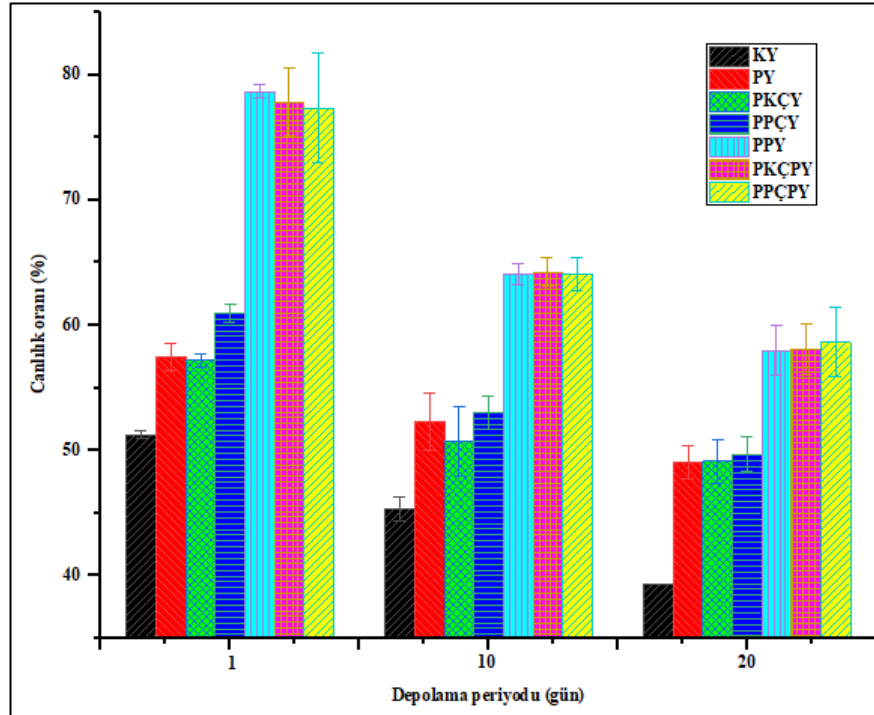
Literatürde nanoliflerle enkapsüle şekilde gıdalarda bulunan probiyotik hücrelerin in vitro gastrointestinal koşullarda canlılıklarının araştırılmasıyla ilgili bir

çalışmaya rastlanmadığından, bu çalışmayla benzer olabilecek çalışmaların sonuçlarıyla kıyaslamalar yapılmıştır. Duman ve Karadağ (2021), *Lactobacillus fermentum* probiyotik hücrelerini polivinil alkol/sodyum aljinat bazlı nanoliflerde enkapsüle ederek, in vitro gastrointestinal koşullarda canlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında, bu çalışmaya benzer olarak, serbest hücrelerin canlılık sayılarının 3.78 log kob/mL azaldığını, nanoenkapsüle hücrelerde 1.7 log kob/mL düşüş meydana geldiğini ve probiyotik hücrelerle birlikte inülin (prebiyotik) içeren nanoenkapsüle hücrelerde ise, diğerlerine göre daha az bir düşüş (0.89-1.57) meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada da, çeşitli konsantrasyonlarda prebiyotiklerle (inülin, fruktooligosakkaritler ve çemen otu) formüle edilmiş aljinat-fesleğen tohumu müsilağı kullanılarak enkapsüle edilen *Leuconostoc mesenteroides* hücrelerinin (%62-87), in vitro gastrointestinal koşullarda canlılıklarını, serbest hücrelere göre (%36), daha fazla koruduğu ve prebiyotik ilavesinin canlılık oranlarını daha fazla arttırdığı bildirilmiştir (Nami ve ark., 2023b). Bu çalışmada da serbest hücrelerle birlikte pullulan ve pektin gibi prebiyotik özelliklere sahip bileşiklerden üretilen nanolifleri içeren PY, PKÇY ve PPCY örneklerinde benzer yönde sonuçlar tespit edilmiştir (Çizelge 4.19, Şekil 4.22). Atraki ve Azizkhani (2021), çalışmalarında bu çalışmayla benzer olarak nanoliflerle enkapsülasyonun, probiyotik hücrelerin canlılıklarını invitro gastrointestinal koşullarda, serbest hücrelere göre önemli derecede daha fazla koruduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, karbonhidrat polimerlerinden mısır nişastası ve sodyum aljinat bazlı nanoliflerde enkapsüle ettikleri *Lactobacilli* türlerini (*Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus rhamnosus*), invitro gastrointestinal koşullara tabi tutmuş ve enkapsüle hücrelerde canlılık sayısının 4.4 log kob azaldığını (canlılık oranı %54.8) ve kontrol olarak kullanılan serbest hücrelerin ise tespit edilemediğini (canlılık oranı yaklaşık %0) bildirmişlerdir.

Çizelge 4.19 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde *L. acidophilus* Hücrelerinin Canlı Kalma Oranları (%)

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	51.247 ± 0.321 ^{Ca}	45.311 ± 0.953 ^{Cb}	39.332 ± 0.014 ^{Cc}
PY	57.450 ± 1.121 ^{BCa}	52.335 ± 2.293 ^{Bab}	49.048 ± 1.347 ^{Bb}
PKÇY	57.192 ± 0.559 ^{BCa}	50.714 ± 2.807 ^{BCa}	49.133 ± 1.773 ^{Ba}
PPÇY	60.985 ± 0.739 ^{Ba}	53.065 ± 1.322 ^{Bb}	49.661 ± 1.378 ^{Bb}
PPY	78.680 ± 0.568 ^{Aa}	64.053 ± 0.855 ^{Ab}	58.005 ± 2.028 ^{Ac}
PKÇPY	77.841 ± 2.673 ^{Aa}	64.253 ± 1.172 ^{Ab}	58.103 ± 2.072 ^{Ab}
PPÇPY	77.355 ± 4.384 ^{Aa}	64.096 ± 1.336 ^{Ab}	58.628 ± 2.760 ^{Ab}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-C}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.22 Depolama Periyodunun Bazı Günlerinde İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde *L. acidophilus* Hücrelerinin Canlı Kalma Oranları

Bu çalışmada ise yoğurt örneklerinde depolama periyodunun 20. gününde, uygulanan gastrointestinal koşullar sonucunda canlılık oranlarının enkap1üle hücrelerde, Atraki

ve Azizkhani (2021)'nin çalışmalarına benzer olarak, yaklaşık %58 olduğu ve depolamanın diğer günlerinde daha yüksek olduğu; serbest hücre içeren yoğurtta (KY) ise, gastrointestinal koşullar sonucunda tespit edilen canlılık oranlarının yüksek olduğu (%39.3-51.3 arasında) görülmüştür. Fareed ve ark., (2022) da nanoliflerle enkapsülasyonun probiyotik hücrelerin canlılıklarını, serbest hücrelere göre önemli derecede daha fazla koruduğunu ifade ettikleri çalışmalarında, gam arabik/polivinil alkol bazlı nanoliflerde enkapsüle ettikleri *Lactobacillus acidophilus* hücrelerinin canlılık sayılarında in vitro mide koşullarında 3.08, bağırsak koşullarında 3.29 log kob/g düşüş meydana geldiği ve serbest hücrelerde ise canlı hücre tespit edilemediği bildirilmiştir.

Mikroenkapsülasyonun da bu çalışmada olduğu gibi probiyotik hücreleri, gastrointestinal koşullarda, serbest hücrelere göre daha fazla muhafaza ettiği görülmüştür. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada Hu ve ark., (2021) sodyum aljinat/pektin ile mikroenkapsüle edilmiş *Lactobacillus bulgaricus* hücrelerinin, gastrointestinal koşullarda, canlılık değerlerinde 4.5; serbest hücrelerde ise 5.6 log kob/g düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Çabuk ve Tellioglu Harsa (2015)'nin çalışmalarında ise, peyniraltı suyu proteini/pullulan ile mikroenkapsüle edilen *Lactobacillus acidophilus* hücrelerinin, in vitro gastrointestinal koşullarda, canlılıklarında yaklaşık 1.92, serbest hücrelerde ise, 4 log kob/g kadar bir azalma olduğu görülmüştür.

Gıda ortamında bulunan probiyotik hücrelerin in vitro gastrointestinal koşullarda canlılıklarının araştırılmasıyla ilgili literatürde bazı çalışmalar görülmektedir. Bu çalışmalardan El Kadri ve ark., (2018)'nin çalışmasında, emülsiyon yöntemiyle enkapsüle edilmiş veya serbest halde *L. paracasei* probiyotik hücrelerini içeren yoğurt örnekleri, depolama periyodunun bazı günlerinde, in vitro gastrointestinal koşullara tabi tutulmuş ve bu çalışmayla benzer olarak, enkapsüle hücrelerin canlılıklarını (\geq %86), serbest hücrelere (\geq %72) göre daha fazla koruduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada Ranadheera ve ark., (2012) serbest halde *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini içeren yoğurt örneğini, in vitro gastrointestinal koşullara tabi tutmuş ve mide koşullarında (pH 3) hücre sayılarının, başlangıca göre çok fazla değişmediğini; bağırsak koşullarında ise 120 dakikalık süre sonunda, bu çalışmayla benzer olarak, hücre sayısında 3.09 log kob/g düşüş (%57 canlılık oranı)

meydana geldiğini bildirmişlerdir. Kemsawasd ve ark., (2016) ise immobilize veya serbest *Lactobacillus casei* probiyotik hücrelerini içeren çikolata örneklerini in vitro mide (pH, 1.4) ve bağırsak koşullarına tabi tutmuş ve bunun sonucunda, serbest hücre içeren örnekte canlı hücre tespit edilemediğini; immobilize hücre içeren örneklerde ise, hücre sayılarında ortalama 5.06 log kob/g kadar bir düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Yukarıda verilen çalışmalarla bu çalışmanın, invitro gastrointestinal koşullarda hücrelerin canlılık sayılarında meydana gelen düşüş oranları arasındaki farklılıkların bazı sebepleri şunlar olabilir: Bazı çalışmalarda kullanılan probiyotik hücrelerin farklı olması, hücrelerin gıda ortamında bulunup/bulunmaması, hücreleri içeren kapsüllerin çözünme hızları, hücrelerin enkapsülasyonlarında kullanılan metot ve yapı (duvar) malzemelerinin farklı olması ve simüle gastrointestinal ortamların pH derecesi, enzim konsantrasyonu ve safra tuzu konsantrasyonu gibi faktörlerinin ve uygulama sürelerinin farklı olmasıdır.

4.4.2 Fizikokimyasal Özellikler

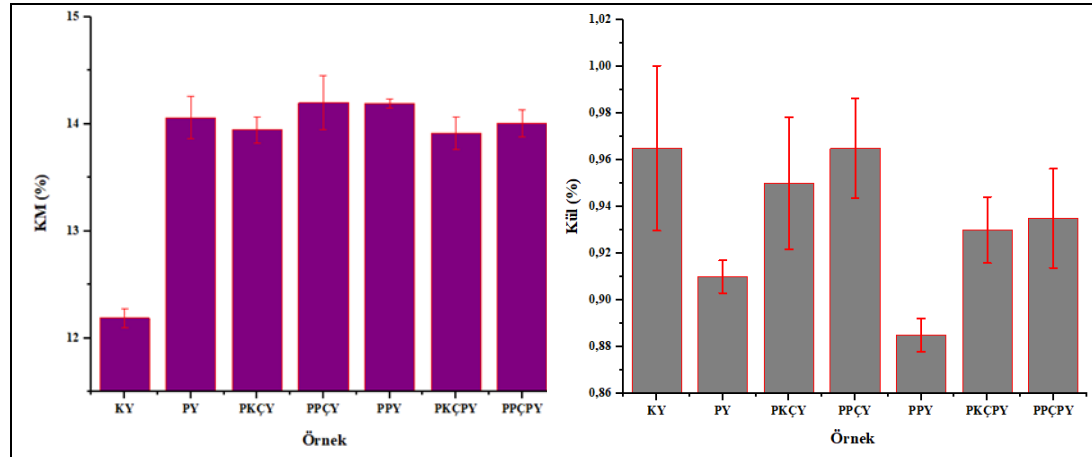
4.4.2.1 Kurumadde ve Kül Miktarı

Bu çalışmada nanolif katkılı yoğurt örneklerinin % kurumadde değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($P>0.05$), nanolif katkılı yoğurtların (%13.91-14.20), nanolif içermeyen kontrol örneğine (%12.18) göre önemli miktarlarda daha fazla kurumadde içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir ($P<0.05$, Çizelge 4.20, Şekil 4.23). Bu durum, nanolif katkılı yoğurtlarda, önemli kısmı kurumadde olan, yaklaşık olarak %3 oranında nanolif bulunmasından kaynaklanmaktadır. El-sayed ve ark., (2022b) yaptıkları çalışmada sızma zeytinyağı içeren mikrokapsül katkılı probiyotik yoğurtlarda, bu çalışmayla benzer olarak, mikrokapsüllü yoğurt örneklerinin diğer örneklere göre daha yüksek kurumadde oranına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Rossi ve ark., (2021) da yoğurt üretiminde farklı oranlarda mikro-enkapsüle starter kültür kullandıkları çalışmalarında, ilave edilen mikro-kapsül oranı arttıkça yoğurdun toplam kurumadde oranının da arttığını bildirmişlerdir. Shafiei (2018) ve Hashim ve ark., (2022)'nin çalışmalarında da

Çizelge 4.20 Yoğurt Örneklerinin % KM ve Kül Ortalama Değerleri İle Standart Sapmalar

Örnek	KM (%)	Kül (%)
KY	12.185 ± 0.092 ^B	0.965 ± 0.035 ^A
PY	14.060 ± 0.198 ^A	0.910 ± 0.007 ^A
PKÇY	13.945 ± 0.120 ^A	0.950 ± 0.028 ^A
PPÇY	14.200 ± 0.255 ^A	0.965 ± 0.021 ^A
PPY	14.190 ± 0.042 ^A	0.885 ± 0.007 ^A
PKÇPY	13.915 ± 0.148 ^A	0.930 ± 0.014 ^A
PPÇPY	14.010 ± 0.127 ^A	0.935 ± 0.021 ^A

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-B}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.23 Yoğurt Örneklerinin % KM ve Kül Ortalama Değerleri

mikro-enkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurtlarda kurumadde oranının, serbest hücre içeren yoğurt örneğine göre, daha fazla olduğu bildirilmiştir. *L. acidophilus* içeren mikro-kapsüllerin yoğurda %10 oranında ilave edildiği başka bir çalışmada ise, mikrokapsül içeren yoğurdun kurumadde oranı, kontrol örneğinden daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi ise, ilave edilen mikrokapsüllerin yaklaşık olarak %96 oranında nem içeriğine sahip olmalarıdır (Ribeiro ve ark., 2014).

Gıdalarda kül analizi, gıdaların toplam mineral madde içeriğini tespit etmek için yapılmaktadır (Afolayan ve Jimoh, 2009). Bu çalışmada, Çizelge 4.20 ve Şekil 4.23'te görüldüğü gibi hem nanolif içeren örnekler arasında hem de nanolif içerenler ile kontrol olarak içermeyen yoğurt örnekleri arasında, kül oranları açısından, istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı bulunmuştur ($P > 0.05$). Shafiei

(2018)'nin çalışmasında da mikro-enkapsüle probiyotik hücre ve serbest hücre içeren yoğurtlarda kül oranları arasında önemli bir farklılık olmadığı bildirilmiş ve rakamsal değerlerin (%0.85-1) de bu çalışmayla benzer olduğu görülmüştür. El-Sayed ve ark., (2022a)'nın çalışmalarında mikro-enkapsüle probiyotik hücre ve serbest hücre ile birlikte farklı oranlarda mikrokapsüller içeren pıhtısı kırılmış yoğurt örneklerinin kül oranları (sırasıyla, %0.91, 0.95 ve 0.96) arasında da, bu çalışmayla benzer olarak, önemli bir farklılık olmadığı bildirilmiştir. Soliman ve Nasser (2022), havuç endüstriyel atıklarından ekstrakte edilen β -karoteni, aljinat yapı malzemesi ile enkapsüle ederek, stirred yoğurda ilave ettikleri çalışmasında da mikro-enkapsüle β -karoten içeren ve içermeyen kontrol örnekleri arasında, kül içeriği açısından, önemli bir farklılık olmadığı bildirilmiştir. Pinto ve ark., (2017)'nin çalışmasında ise, bu çalışmadan farklı olarak, mikro-enkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurtların kül oranlarının serbest hücre içeren kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu durumun, enkapsülasyon için kullanılan malzemenin bileşiminden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir.

4.4.2.2 pH ve Titrasyon Asitliği

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin, pH ortalama değerleri arasındaki farklılıkların, örnek ve depolama periyodu açısından önemli ($P<0.05$); örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli olmadığı ($P>0.05$); titrasyon asitliği ortalama değerleri arasındaki farklılıkların ise, örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.21, $P<0.05$).

Çizelge 4.21 Yoğurt Örneklerinin pH ve Titrasyon Asitliği (%LA) Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

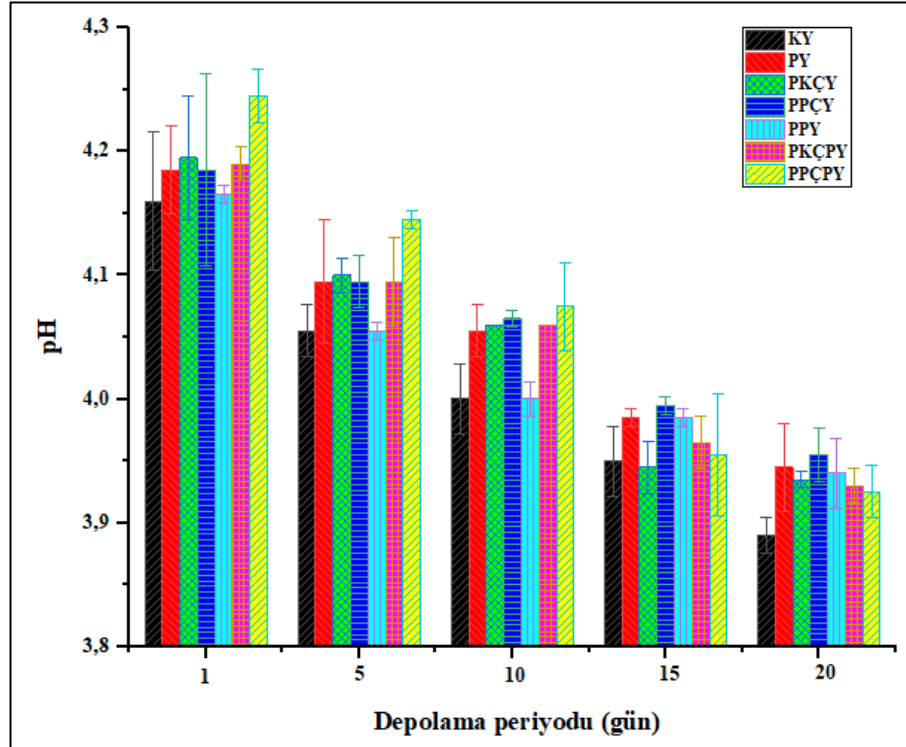
		Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
pH	Örnek	6	0.02261	0.00377	4.5477	0.00165
	Depolama	4	0.58399	0.146	176.20431	<0.0001
	İnteraksiyon	24	0.01955	8.14524E-4	0.98305	0.5087
	Model	34	0.62615	0.01842	22.22637	<0.0001
	Hata	35	0.029	8.28571E-4		
	Düzeltilmiş Toplam	69	0.65515			
%LA	Örnek	6	0.06483	0.0108	21.18581	<0.0001
	Depolama	4	1.93933	0.48483	950.65406	<0.0001
	İnteraksiyon	24	0.05109	0.00213	4.17367	<0.0001
	Model	34	2.05525	0.06045	118.52645	<0.0001
	Hata	35	0.01785	5.1E-4		
	Düzeltilmiş Toplam	69	2.0731			

Bu çalışmada yoğurt örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemekle ($P>0.05$, Çizelge 4.22, Şekil 4.24) birlikte

Çizelge 4.22 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Tespit Edilen pH Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama				
	1. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KY	4.16 ± 0.06 ^{Aa}	4.05 ± 0.02 ^{Aab}	4.00 ± 0.03 ^{Abc}	3.95 ± 0.03 ^{Abc}	3.89 ± 0.01 ^{Ac}
PY	4.18 ± 0.04 ^{Aa}	4.09 ± 0.05 ^{Aab}	4.05 ± 0.02 ^{Aabc}	3.98 ± 0.01 ^{Abc}	3.94 ± 0.04 ^{Ac}
PKÇY	4.19 ± 0.05 ^{Aa}	4.10 ± 0.01 ^{Aab}	4.06 ± 0.00 ^{Ab}	3.94 ± 0.02 ^{Ac}	3.93 ± 0.01 ^{Ac}
PPÇY	4.18 ± 0.08 ^{Aa}	4.09 ± 0.02 ^{Aab}	4.06 ± 0.01 ^{Aab}	3.99 ± 0.01 ^{Ab}	3.95 ± 0.02 ^{Ab}
PPY	4.16 ± 0.01 ^{Aa}	4.05 ± 0.01 ^{Ab}	4.00 ± 0.01 ^{Abc}	3.98 ± 0.01 ^{Ac}	3.94 ± 0.03 ^{Ac}
PKÇPY	4.19 ± 0.01 ^{Aa}	4.09 ± 0.04 ^{Ab}	4.06 ± 0.00 ^{Ab}	3.96 ± 0.02 ^{Ac}	3.93 ± 0.01 ^{Ac}
PPÇPY	4.24 ± 0.02 ^{Aa}	4.14 ± 0.01 ^{Aab}	4.07 ± 0.04 ^{Abc}	3.95 ± 0.05 ^{Accd}	3.92 ± 0.02 ^{Ad}

Aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P<0.05$), aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-d}) belirtilmiştir. Sütun ve satırlarda aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P>0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY; enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY; enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY; enkap1üle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.24 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince pH Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

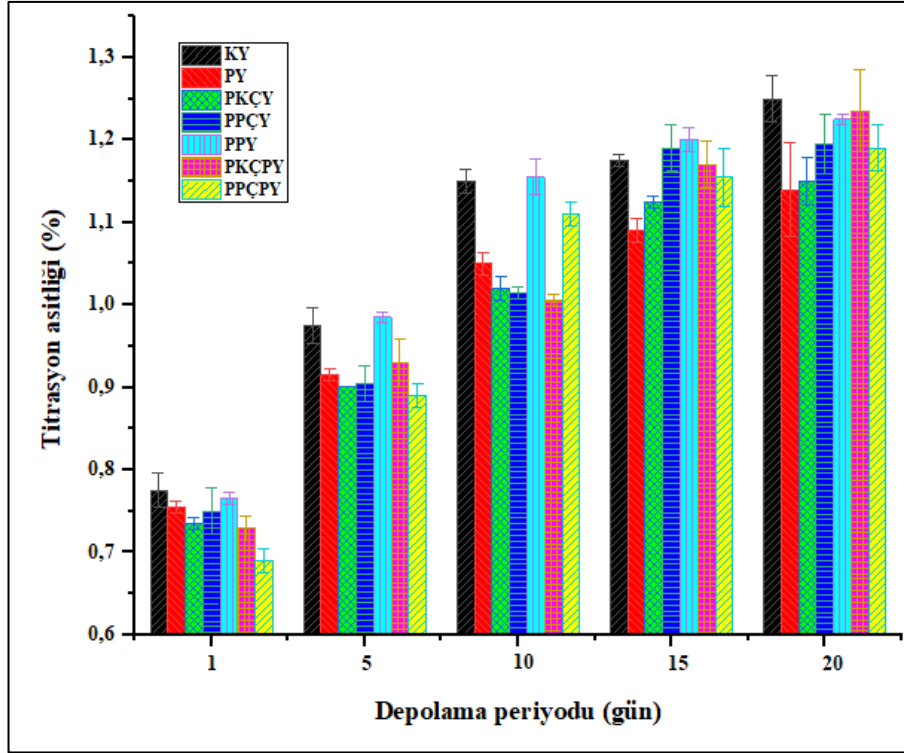
titrasyon asitliği değerleri arasında bazı önemli farklılıklar ($P < 0.05$, Çizelge 4.23, Şekil 4.25) tespit edilmiştir. Ayrıca yoğurt örneklerinin hem pH hem de titrasyon asitliği değerleri, depolama süresince önemli derecede farklılıklar göstermektedir ($P < 0.05$). Bu farklılıklar, pH değerlerinin genel olarak düşmesi, titrasyon asitliği değerlerinin ise artması şeklindedir. *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* ve *S. thermophilus* yoğurt starter kültürleri, buzdolabı sıcaklığında bile aktiftirler ve laktozun fermentasyonu ile az miktarda laktik asit üretebilir ve bu da gözle görülür bir pH düşüşüne ve titrasyon asitliğinin artmasına neden olmaktadır (Kailasapathy, 2006; İnanç Horuz ve Belibağlı, 2019).

Yoğurtların pH değerlerinde, nanoliflerin yoğurtlara ilavesine bağlı, önemli bir farklılık gözlemlenmezken, titrasyon asitliği değerlerinde genel olarak farklılıklar tespit edilmiştir. İnanç Horuz ve Belibağlı (2019), da yaptıkları çalışmada, nanolif katkılı ve katkısız kontrol yoğurtlarında; Pour ve ark., (2022) ise mikro-enkapsüle ve kontrol olarak serbest probiyotik hücreleri içeren yoğurtların hepsinde depolama süresince pH'nın düştüğü ve titrasyon asitliğinin arttığını bildirmişlerdir. İnanç Horuz ve Belibağlı (2019)'nın çalışmasında, bu çalışmayla benzer olarak, örneklerin titrasyon asitliği değerleri arasında genel olarak önemli bir farklılık olduğu da bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da mikro-enkapsüle probiyotik hücreleri içeren ve içermeyen kontrol yoğurtlarının tamamında depolama süresince pH'nın düştüğü bildirilmiştir (Afzaal ve ark., 2019).

Çizelge 4.23 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Tespit Edilen Titrasyon Asitliği Ortalama Değerleri (%LA) ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama				
	1. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KY	0.77 ± 0.02 ^{Ad}	0.97 ± 0.02 ^{ABc}	1.15 ± 0.01 ^{Ab}	1.17 ± 0.02 ^{ABab}	1.25 ± 0.03 ^{Aa}
PY	0.75 ± 0.01 ^{Ac}	0.91 ± 0.01 ^{BCb}	1.05 ± 0.01 ^{Ba}	1.09 ± 0.01 ^{Ba}	1.14 ± 0.06 ^{Aa}
PKÇY	0.73 ± 0.01 ^{ABd}	0.90 ± 0.00 ^{Cc}	1.02 ± 0.02 ^{Bb}	1.12 ± 0.01 ^{ABa}	1.15 ± 0.03 ^{Aa}
PPÇY	0.75 ± 0.03 ^{ABd}	0.90 ± 0.02 ^{Cc}	1.01 ± 0.01 ^{Bb}	1.19 ± 0.03 ^{Aa}	1.19 ± 0.04 ^{Aa}
PPY	0.76 ± 0.01 ^{Ad}	0.98 ± 0.01 ^{Ac}	1.15 ± 0.02 ^{Ab}	1.20 ± 0.01 ^{Aab}	1.22 ± 0.01 ^{Aa}
PKÇPY	0.73 ± 0.01 ^{ABc}	0.93 ± 0.03 ^{ABCb}	1.00 ± 0.01 ^{Bb}	1.17 ± 0.03 ^{ABa}	1.23 ± 0.05 ^{Aa}
PPÇPY	0.69 ± 0.01 ^{Bc}	0.89 ± 0.01 ^{Cb}	1.11 ± 0.02 ^{Aa}	1.15 ± 0.04 ^{ABa}	1.19 ± 0.03 ^{Aa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-C}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-d}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.25 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Titrasyon Asitliği (%LA) Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışmada, önemli olmamakla birlikte genel olarak kontrol örneğinin pH değeri, diğer örnekler göre daha düşük ve titrasyon asitliği değeri ise, daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun, kontrol örneğinin probiyotik bakteri içeriğinin düşük olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Çünkü probiyotik bakterilerin asit üretim hızı, yoğurt starter kültürlerine göre daha yavaştır (Kailasapathy, 2006) ve yüksek sayıda probiyotik hücre içeren nanolif katkılı yoğurtlarda, starter kültürlerin aktiviteleri düşmüş olabilir. Nanolifin yoğurttaki serbest suyu bağlaması nedeniyle, laktik asit bakterilerinin metabolik aktivitelerinin olumsuz etkilenmiş olabileceği de buna sebep olarak gösterilebilir.

Bu çalışmada üretilen yoğurtların titrasyon asitliği değerlerinin depolamanın 1. gününde 0.69-0.77 ve 20. gününde 1.14-1.25 arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda çalışmada üretilen yoğurtların asitlik değerlerinin, Türk Gıda Kodeksi fermente süt ürünleri tebliğinde yoğurt için belirtilen değerler arasında (0.6-1.5) olduğu görülmektedir (Anonim, 2022).

4.4.2.3 Serum Ayrılması

Sineresis olarak da bilinen serum ayrılması, yoğurdun duyuşsal kalitesini ve tüketici tarafından kabul edilebilirliğini ciddi şekilde etkileyebilen ve pıhtılaşımiş sütün sıvının dışarıya çıkararak, yoğurdun yüzeyinde birikmesi şeklinde meydana gelen, istenmeyen bir olay olarak tanımlanmaktadır (Sah ve ark., 2016; Fan ve ark., 2023). Yoğurtlarda bu olay, depolama süresince artmaktadır. Bu durum, yoğurtlarda depolama süresince pH'nın düşmesi ve buna bağılı olarak kazein misellerinin net negatif yüklerinin azalmasıyla kazein ağının sıkılaşıması sonucu daha fazla sıvının (serum) pıhtıdan dışarı atıldığı şeklinde yorumlanmaktadır (Sah ve ark., 2016).

Çizelge 4.24 Yoğurt Örneklerinde Ayrılan Serum Miktarlarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	312.79176	52.13196	1824.46657	<0.0001
Depolama	2	327.36563	163.68282	5728.42121	<0.0001
İnteraksiyon	12	115.43577	9.61965	336.6596	<0.0001
Model	20	755.59316	37.77966	1322.17785	<0.0001
Hata	21	0.60005	0.02857		
Düzeltilmiş Toplam	41	756.19321			

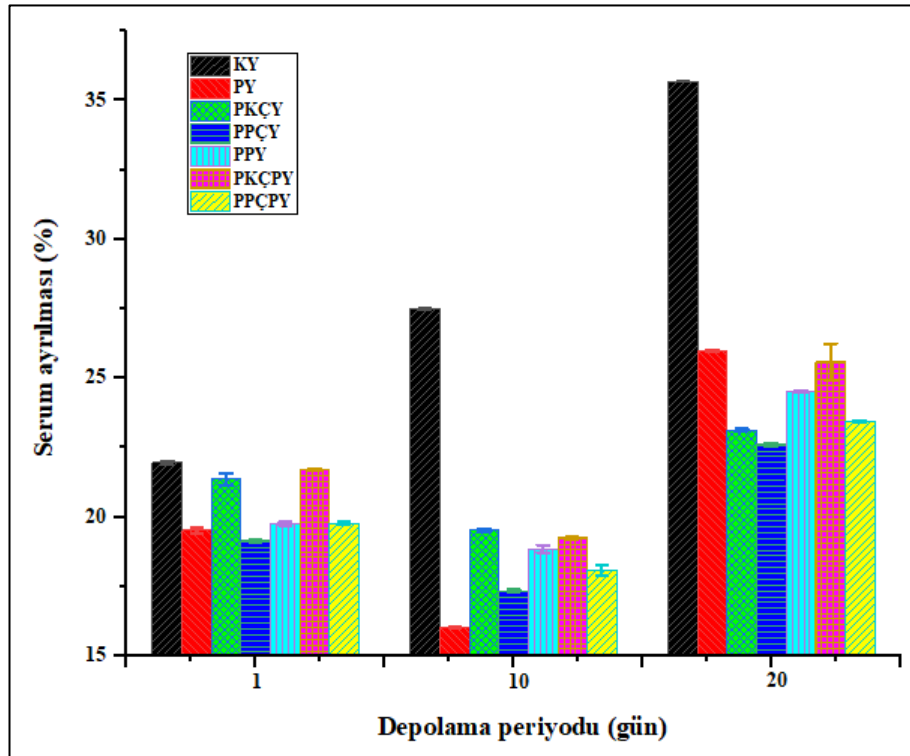
İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, Çizelge 4.24'te görüldüğü gibi yoğurt örneklerinde meydana gelen serum ayrılması yüzde (%) ortalama değerleri arasındaki farklılıkların örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksiyonu açısından önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Bu çalışmada, yoğurt örneklerinin hepsinde belli miktarlarda serum ayrılması görülmekle birlikte nanolif katkılı yoğurtlarda ayrılan serum miktarları, kontrol örneğine göre önemli derecede ($P<0.05$, Çizelge 4.25, Şekil 4.26) daha düşük bulunmuştur. Farklı nanolif katkılı yoğurtlarda serum ayrılma oranları genel olarak benzer olmakla birlikte sonuçlarda görülen bazı farklılıkların, nanoliflerin çözünme oranlarıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. Kontrol örneğinde ayrılan serum miktarı, depolama süresince artarken, nanolif katkılı yoğurtlarda ayrılan serum miktarları, depolamanın 10. gününde 1. güne göre daha düşük; 20. günde ise, diğer günlere göre daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durumun, nanoliflerin pıhtıdan sızan sıvıyı depolamanın 10. gününe kadar yüksek miktarlarda bağlayabildiği, sonrasında ise sızmaya devam eden sıvıyı daha az miktarlarda bağlamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.25 Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Süresince Meydana Gelen Serum Ayrılmalarına Ait Yüzde (%) Ortalama Değerler ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	21.950 ± 0.071 ^{Ac}	27.490 ± 0.014 ^{Ab}	35.690 ± 0.014 ^{Aa}
PY	19.515 ± 0.120 ^{CDb}	16.005 ± 0.021 ^{Fc}	25.970 ± 0.028 ^{Ba}
PKÇY	21.365 ± 0.219 ^{Bb}	19.520 ± 0.057 ^{Bc}	23.125 ± 0.035 ^{Da}
PPÇY	19.130 ± 0.028 ^{Db}	17.325 ± 0.049 ^{Ec}	22.595 ± 0.078 ^{Da}
PPY	19.755 ± 0.064 ^{Cb}	18.850 ± 0.141 ^{Cc}	24.510 ± 0.014 ^{Ca}
PKÇPY	21.700 ± 0.042 ^{ABb}	19.240 ± 0.042 ^{Bc}	25.575 ± 0.672 ^{Ba}
PPÇPY	19.775 ± 0.049 ^{Cb}	18.070 ± 0.184 ^{Dc}	23.430 ± 0.042 ^{Da}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-F}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.26 Yoğurt Örneklerinde Meydana Gelen Serum Ayrılması Miktarlarının (%) Depolama Periyodu Süresince Değişimi

Fan ve ark., (2023) yaptıkları çalışmada, kurt üzümü (goji) diyet lifi (ÜDL) ilaveli probiyotikli yoğurtlarda, bu çalışmayla benzer şekilde, sineresisin kontrol örneğine göre, önemli derecede daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun ÜDL'nin,

kazein ağı ile etkileşime girerek ve viskoziteyi artırarak sıvıyı tutma kapasitesini artırabilen, inülin, β -glukan ve oligosakkaritler gibi anyonik hidrokolloidlerden oluşan polisakkaritler ve pektin içermesinden kaynaklanmış olabileceği bildirilmektedir (Fan ve ark., 2023). Bu çalışmada kullanılan nanolifler de pullulan ve meyve posalarından ekstrakte edilen, başta pektin olmak üzere, çeşitli çözünür polisakkaritler içermektedir. Polisakkaritler, yoğurt gibi ürünlerde kıvam artırıcı maddeler olarak da kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2022). Nami ve ark., (2023a) da D₃ vitamini içeren jelatin-maltodekstrin mikrokapsülleri probiyotikli yoğurtlara ilave ettikleri çalışmalarında, bu çalışmayla benzer olarak, serum ayrılmasının kontrol örneğine göre daha düşük seviyelerde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Khorshidi ve ark., (2021) çeşitli malzemelerle kaplanan mikro-enkapsüle *L. acidophilus* hücrelerini yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında da mikrokapsül içeren yoğurt örneklerinde, depolamanın 1. gününde serbest hücre içeren örneğe göre, serum ayrılma miktarlarının önemli derecede daha düşük olduğu; depolamanın diğer günlerinde ise, kontrol örneğinde serum ayrılması artarken, mikrokapsül içeren örneklerde serum ayrılmasının hiç gözlemlenmediği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise, domates kapuğu ekstraktı, jelatin ve zein nanolifleriyle enkapsüle edilerek, yoğurda katılmış ve 15 günlük depolama periyodu süresince nanolif katkılı yoğurtlar ile kontrol yoğurdu arasında, serum ayrılması bakımından, genel olarak önemli bir farklılık görülmediği ve bu durumun, nanoliflerin yoğurtta çözünmemesiyle ilgili olabileceği bildirilmiştir (İnanç Horuz ve Belibağlı, 2019). Bu çalışmada da depolamanın 1. gününde örneklerin serum ayrılma oranları arasında çok bir farklılık görülmemektedir. Dolayısıyla depolamanın 1. gününde nanoliflerin çözünmediği; depolamanın ilerleyen günlerinde ise, yavaş bir çözünmenin gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir.

4.4.3 Yoğurt Örneklerinin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri

Yoğurt, üretiminde sütün fermentasyonu sırasında meydana gelen antioksidan aktiviteye sahip çok miktarda amino asit ve polipeptit nedeniyle (Yang ve ark., 2023) ve ayrıca fermentasyonda kullanılan kültürler, karbonhidrat ve lipit gibi bileşikler de antioksidan özelliğe sahip organik asit ve serbest yağ asitleri gibi ikincil formlara dönüştürebildiğinden (Krunić ve Rakin, 2022), belirli miktarda antioksidan etkiye

sahip bir gıda maddesidir. Bu bileşiklerin dışında yoğurttan oluşan bakteriyel ekzopolisakkaritler (EPS)'in de süperoksit anyonu ve hidrojen peroksiti parçalayarak, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktiviteleri düzenleme yeteneğine sahip oldukları bildirilmektedir (Yang ve ark., 2023).

Bu çalışmada, yoğurt örneklerinin toplam antioksidan aktivitesi, DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme aktivitesi yöntemleri ile belirlenmiş ve sonuçlar, Troloks eş değeri olarak mg/L cinsinden verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, Çizelge 4.26'da görüldüğü gibi yoğurt örneklerinde DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme aktivitesi (antioksidan aktivite) ortalama değerleri arasındaki farklılıkların, örnek ve depolama periyodu açısından önemli ($P < 0.05$); örnek*depolama periyodu etkileşimini açısından ise önemsiz ($P > 0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.26 Yoğurt Örneklerinin DPPH ve ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

		Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
DPPH	Örnek	6	30.7156	5.11927	6.49791	5.45083E-4
	Depolama	2	44.84037	22.42019	28.45805	<0.0001
	İnteraksiyon	12	13.62422	1.13535	1.44111	0.2237
	Model	20	89.18019	4.45901	5.65984	1.09769E-4
	Hata	21	16.54449	0.78783		
	Düzeltilmiş Toplam	41	105.72468			
	Örnek	6	10.54311	1.75719	13.85852	<0.0001
ABTS	Depolama	2	246.53698	123.26849	972.19062	<0.0001
	İnteraksiyon	12	1.22778	0.10232	0.80694	0.6411
	Model	20	258.30788	12.91539	101.86078	<0.0001
	Hata	21	2.66269	0.12679		
	Düzeltilmiş Toplam	41	260.97056			

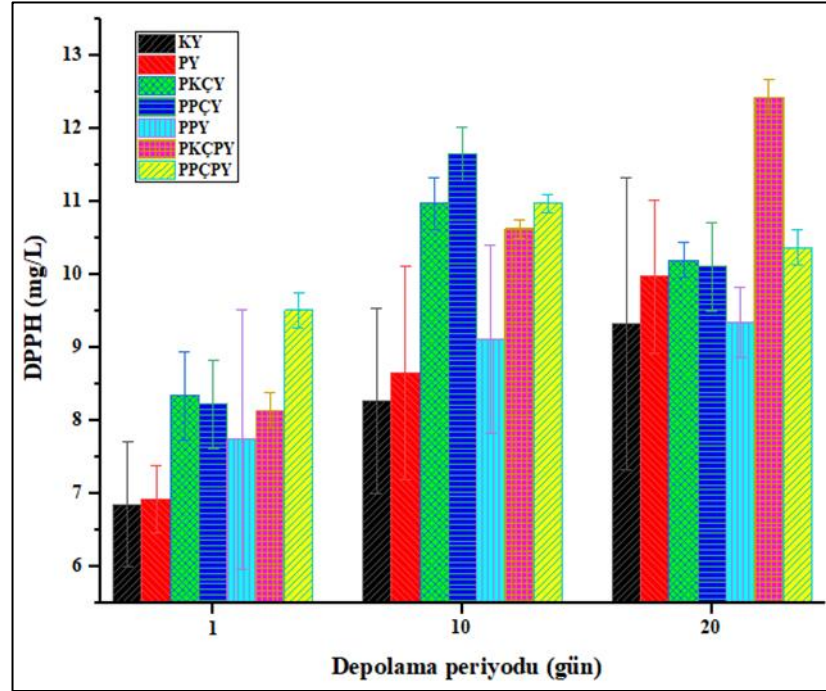
Yoğurt örneklerinin DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme aktiviteleri, troloks eşdeğeri olarak (mg/L) depolamanın başlangıcında sırasıyla, 6.85-9.51 ve 6.27-7.74; depolamanın sonunda ise sırasıyla, 9.33-12.43 ve 12.33-13.48 bulunmuş ve bu değerlerin, literatürde bildirilen değerler aralığında olduğu tespit edilmiştir (Sahingil ve Hayaloglu, 2022; Cerda-Bernad ve ark., 2023). Ayrıca özellikle bileşiminde KÇF ve PÇF bulunan nanolifleri içeren yoğurt örneklerinde daha yüksek olmak üzere, tüm nanolif katkılı yoğurt örneklerinin antioksidan aktivite değerleri, kontrol örneğinden (KY) daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte örneklerin

DPPH serbest radikal süpürme aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı (Çizelge 4.27, Şekil 4.27, P>0.05);

Çizelge 4.27 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri (mg/L)

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	6.85 ± 0.85 ^{Aa}	8.27 ± 1.27 ^{Aa}	9.33 ± 1.99 ^{Aa}
PY	6.92 ± 0.46 ^{Aa}	8.65 ± 1.46 ^{Aa}	9.97 ± 1.05 ^{Aa}
PKÇY	8.34 ± 0.61 ^{Ab}	10.97 ± 0.36 ^{Aa}	10.20 ± 0.24 ^{Aa}
PPÇY	8.22 ± 0.60 ^{Ab}	11.66 ± 0.37 ^{Aa}	10.11 ± 0.61 ^{Ab}
PPY	7.74 ± 1.78 ^{Aa}	9.11 ± 1.29 ^{Aa}	9.34 ± 0.48 ^{Aa}
PKÇPY	8.14 ± 0.24 ^{Ac}	10.63 ± 0.12 ^{Ab}	12.43 ± 0.24 ^{Aa}
PPÇPY	9.51 ± 0.24 ^{Ab}	10.97 ± 0.13 ^{Aa}	10.37 ± 0.25 ^{Ab}

Aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar (P<0.05), aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aralarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmayan (P>0.05) değerler, aynı harflerle gösterilmiştir. KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



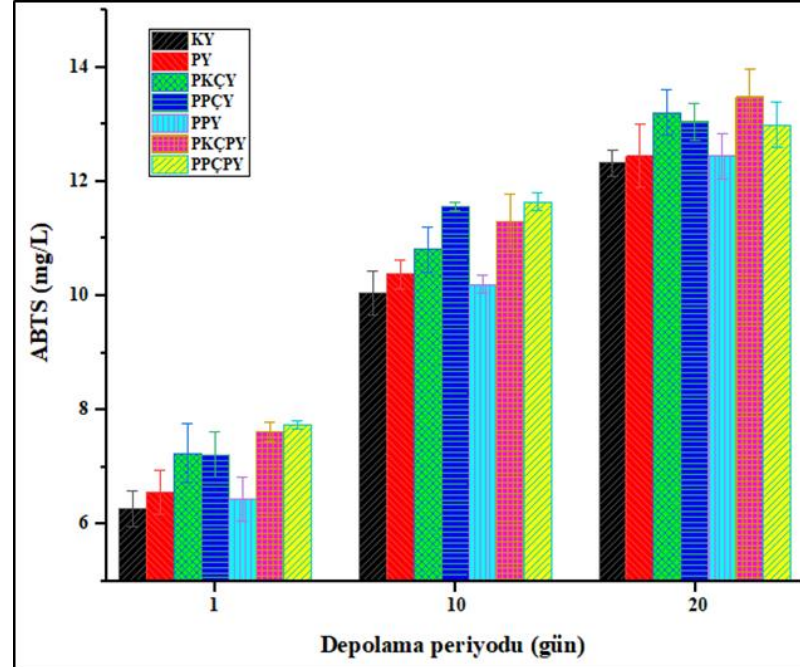
Şekil 4.27 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerinde (mg/L) Meydana Gelen Değişimler

ABTS serbest radikal süpürme aktivite değerleri arasında ise, depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.28, Şekil 4.28, $P < 0.05$).

Çizelge 4.28 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri (mg/L)

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	6.27 ± 0.31 ^{Bc}	10.04 ± 0.38 ^{Db}	12.33 ± 0.23 ^{Aa}
PY	6.56 ± 0.38 ^{ABc}	10.37 ± 0.24 ^{BCDb}	12.44 ± 0.55 ^{Aa}
PKÇY	7.24 ± 0.51 ^{ABc}	10.81 ± 0.40 ^{ABCDb}	13.21 ± 0.40 ^{Aa}
PPÇY	7.21 ± 0.40 ^{ABc}	11.56 ± 0.08 ^{ABb}	13.05 ± 0.32 ^{Aa}
PPY	6.44 ± 0.39 ^{ABc}	10.20 ± 0.15 ^{CDb}	12.45 ± 0.40 ^{Aa}
PKÇPY	7.61 ± 0.17 ^{ABc}	11.30 ± 0.47 ^{ABCb}	13.48 ± 0.47 ^{Aa}
PPÇPY	7.74 ± 0.06 ^{Ac}	11.64 ± 0.15 ^{Ab}	12.99 ± 0.39 ^{Aa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-D}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.28 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Troloks Eş Değeri Olarak ABTS Serbest Radikal Süpürme Aktivitelerinde (mg/L) Meydana Gelen Değişimler

KÇF ve PÇF içeren nanolif katkılı örneklerde değerlerin yüksek olması, fenolik bileşik ve pektin içeriğinden kaynaklanmış olabilir. Sabater ve ark., (2020) ve Khubber ve ark., (2021) da çalışmalarında benzer şekilde, pektindeki galakturonik asitten dolayı pektin ilaveli yoğurtlarda antioksidan aktivite değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Nanolif içeren tüm örneklerde, kontrole göre daha yüksek olmasının ise, probiyotik hücre sayılarının daha yüksek olmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. *Lactobacillus* türlerinin antioksidan özellikte metabolitler ürettiği (Ural ve Yüksekdağ, 2020) ve probiyotik bakterilerin gıdaların antioksidan aktivitesini iyileştirdiği (Yang ve ark., 2023) gibi bilgiler bu sonucu desteklemektedir.

Örneklerin DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme aktiviteleri, depolama süresince incelendiğinde; KY, PY ve PPY örneklerinin DPPH aktiviteleri depolama süresince artsa da bu artış, istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($P>0.05$). PKÇY örneğinin antioksidan aktivitesi, 10. günde önemli derecede artmış ($P<0.05$) ve istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte 20. günde düşüş meydana gelmiştir. PPCY ve PPCPY örneklerinde ise, 10. günde önemli derecede bir artış ve 20. günde, 10. güne oranla önemli bir düşüş meydana gelmiştir. Ayrıca PKÇPY örneğinin DPPH ve tüm örneklerin ABTS süpürme aktivitesi değerleri, depolama süresince önemli derecede artmıştır ($P<0.05$).

Yoğurt üretiminde kullanılan starter kültür ve probiyotiklerin, antioksidan özellikte çeşitli bileşikleri üretme aktivitelerinin, yoğurt üretimi dışında, depolama süresince de devam edebileceği, literatürde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda görülmektedir (Madhu ve ark., 2012; Tavakoli ve ark. 2019; Krunic ve Rakin, 2022; Yang ve ark., 2023). Bu çalışmada da depolama süresince, yoğurt örneklerinin antioksidan aktiviteleri genel olarak artmıştır. Çalışmada yoğurt üretiminde sütün fermentasyonundan sonra probiyotik bakteri, pıhtısı kırılmış yoğurda katılmıştır. Dolayısıyla bu durumda probiyotik hücrelerin, yoğurt örneklerinin depolama süreçlerinde daha fazla miktarda antioksidan özellikte bileşikler üretebilecekleri ve depolama süresince meydana gelen artışın bundan da kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada, örnekler arasında ve depolama süresince, antioksidan aktivite değerlerinde görülen farklılıkların, yoğurt starter kültürü ve probiyotik hücrelerin metabolik aktivitelerindeki ve yoğurtların bileşimindeki

farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda ürünlerde bulunan veya bakteri hücreleri tarafından salgılanan enzim türleri, proteinlerin hidrolizi, enzimin protein zincirini kırdığı spesifik bölgeye ve proteoliz süresine bağlı olarak, antioksidan aktivitenin değişebileceği bildirilmektedir (Krunić ve Rakin, 2022). Çalışmada DPPH ve ABTS değerleri, genel olarak farklı olmakla birlikte örneklerin ABTS serbest radikal süpürme aktivitelerinin, depolamanın 1. günü hariç, DPPH değerlerinden genel olarak daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir. Khubber ve ark., (2021) ve Krunić ve Rakin (2022), çalışmalarında da yoğurt örneklerinde ABTS serbest radikal süpürme etkisinin, DPPH'a göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir. ABTS ve DPPH değerleri arasında görülen farklılıklar, polarite, iyonik koşullar, hidrojen bağlama yetenekleri, çözünürlük ve stereo yapı gibi antioksidatif bileşiklerdeki yapısal farklılıklardan kaynaklanmış olabilir (Akan, 2022).

Yüksek antioksidan kapasiteye sahip peyniraltı suyu bazlı içecek üretmek amacıyla mikroenkapsüle probiyotik hücrelerin, yüksek oranda (%70) serum proteini katkılı süte ilave edildiği bir çalışmada, depolamanın 7. gününe kadar, bu çalışmayla benzer olarak, antioksidan kapasitede önemli bir artış olduğu ve sonrasında DPPH süpürme kapasitesinin azaldığı; bazı örneklerde ise, ABTS süpürme aktivitesinin depolamanın 7. gününe kadar düştüğü, ardından ise, bu çalışmada olduğu gibi, 21. güne kadar (yaklaşık %70) önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Krunić ve Rakin, 2022). Tavakoli ve ark., (2019) çalışmalarında *Lactobacillus acidophilus* probiyotik hücre içeren ve içermeyen (kontrol) farklı yağ oranlarına sahip yoğurt örneklerinden probiyotikli örneklerde, antioksidan aktivitenin önemli derecede daha yüksek olduğu; tüm örneklerde antioksidan aktivitenin, bu çalışmayla benzer olarak, depolamanın 14. gününe kadar yükseldiği, 21. günde ise bir miktar düştüğü bildirilmiştir. Yang ve ark., (2023)'ün çalışmalarında ise, farklı probiyotik hücreleri kullanarak ürettikleri keçi sütü yoğurtlarında, probiyotik hücre içermeyen kontrol örneğinde radikal süpürme oranı, probiyotikli yoğurtlara göre daha düşük olmakla birlikte, bütün örneklerde depolama süresince, DPPH serbest radikal süpürme aktivitesinin, bu çalışmayla benzer olarak, kademeli şekilde arttığı bildirmiştir. Bir diğer çalışmada, Madhu ve ark., (2012) çalışmalarında sadece yoğurt kültürü, yoğurt kültürü + probiyotik hücreler (probiyotik yoğurt) ve yoğurt kültürü + probiyotik + prebiyotik içeren (sinbiyotik yoğurt) yoğurt örneklerinin çeşitli özelliklerini araştırmışlardır.

Çalışmada antioksidan aktivitenin (DPPH serbest radikal süpürme kapasitesi), bu çalışmada olduğu gibi sinbiyotik yoğurtlarda en yüksek ve sadece yoğurt kültürü içerende en düşük olduğu, depolamanın 7. gününde tüm örneklerde, 1. güne göre antioksidan aktivitenin yüksek olduğu ve depolamanın diğer günlerinde ise önemli derecede değişmediği bildirilmiştir.

4.4.4 Tekstür Profil Analizine Ait Bulgular

Tekstürel özellik, yoğurdun yapısını ve kalitesini değerlendirmek için önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Li ve ark., 2021b). Tekstürel özellikler olarak bu çalışmada yoğurt örneklerinin sertlik (firmness), kıvam (consistency), yapışkanlık (cohesiveness) ve viskozite indeksi değerleri belirlenmiş ve bulunan sonuçlar aşağıda tartışılmıştır. Bu çalışma kapsamında üretilen pıhtısı kırılmış yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerine ait rakamsal değerlerinin genel olarak, aşağıda atıfta bulunulan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.

4.4.4.1 Sertlik

Belirli bir deformasyona ulaşmak için gereken kuvvet olarak kabul edilen sertlik, yoğurt dokusunu ve sıklığını değerlendirmek için kullanılan en önemli parametredir (Mudgil ve ark., 2017; Khorshidi ve ark., 2021). İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerinden sertlik ortalama değerleri arasındaki farklılıkların, örnek ve depolama periyodu açısından önemli ($P < 0.05$); örnek*depolama periyodu interaksiyonu açısından ise önemli olmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29 Yoğurt Örneklerinin Sertlik Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	0.05896	0.00983	10.61785	<0.0001
Depolama	2	0.11466	0.05733	61.94261	<0.0001
İnteraksiyon	12	0.01931	0.00161	1.73836	0.129
Model	20	0.19292	0.00965	10.42263	<0.0001
Hata	21	0.01944	9.255E-4		
Düzeltilmiş Toplam	41	0.21236			

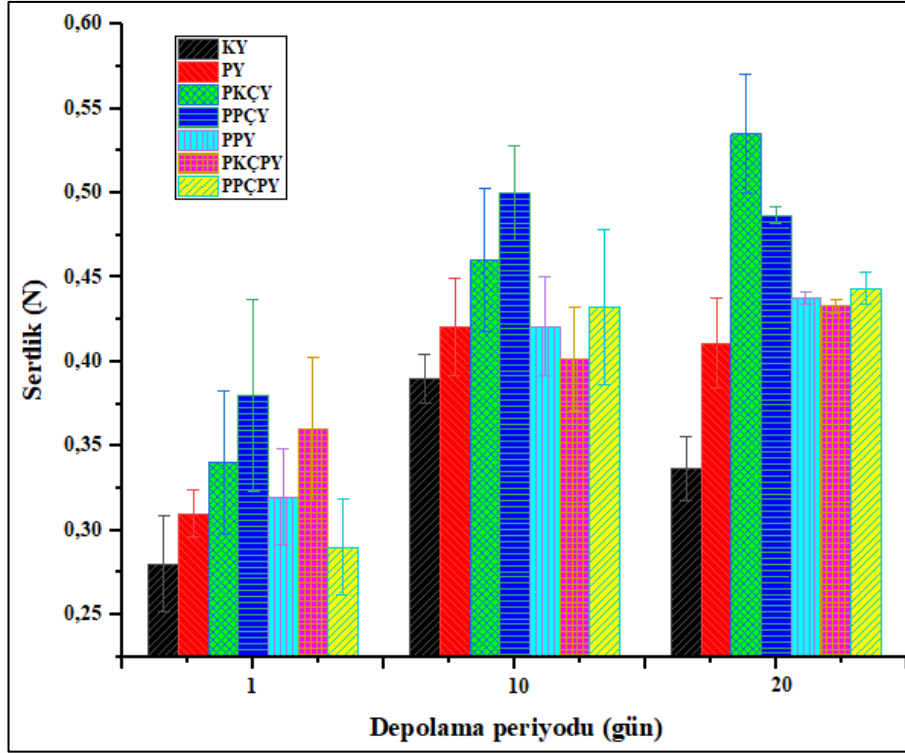
Bu çalışmada yoğurt örneklerinin sertlik değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.30, Şekil 4.29); depolamanın 1 ve 10. günlerinde, nanolif içerenlerin, kontrol örneğine göre yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemektedir ($P>0.05$). Depolamanın 20. gününde ise, nanolif katkılı yoğurtlarda sertlik değerlerinin kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum, depolamanın 10. gününe kadar, nanoliflerde meydana gelen çözünmenin önemli derecede olmadığını, 10. günden sonra ise belirgin bir çözünmenin meydana gelerek, ortamdaki serbest suyun, nanolifleri oluşturan hidrokolloid bileşikler (pullulan, pektin vs.) tarafından bağlanması sonucu yoğurt jelinin sıklığının artmış olabileceğini göstermektedir (Frakolaki ve ark., 2021). Nanolif katkılı yoğurtların sertlik değerleri (20. gün) arasında meydana gelen farklılıklar ise, nanoliflerin çözünme oranlarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Frakolaki ve ark., (2021) da enkapsüle probiyotik kültür içeren set tipi yoğurtlarda sertlik değerlerinin, serbest hücre içeren örneğe göre, önemli derecede daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Yoğurt örneklerinin sertlik değerleri, depolama periyodununun 10. gününde genel olarak önemli derecede artmış ($P<0.05$); 20. gününde ise, 10. gün ile benzer değerler bulunmuştur.

Çizelge 4.30 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Sertlik Ortalama Değerleri ve Standart Sapmaları

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	0.28 ± 0.03 ^{Ab}	0.39 ± 0.01 ^{Aa}	0.34 ± 0.02 ^{Dab}
PY	0.31 ± 0.01 ^{Ab}	0.42 ± 0.03 ^{Aa}	0.41 ± 0.03 ^{CDab}
PKÇY	0.34 ± 0.04 ^{Ab}	0.46 ± 0.04 ^{Aab}	0.53 ± 0.04 ^{Aa}
PPÇY	0.38 ± 0.06 ^{Aa}	0.50 ± 0.03 ^{Aa}	0.49 ± 0.01 ^{ABa}
PPY	0.32 ± 0.03 ^{Ab}	0.42 ± 0.04 ^{Aa}	0.44 ± 0.00 ^{BCa}
PKÇPY	0.36 ± 0.05 ^{Aa}	0.40 ± 0.06 ^{Aa}	0.43 ± 0.02 ^{BCa}
PPÇPY	0.29 ± 0.03 ^{Ab}	0.43 ± 0.05 ^{Aa}	0.44 ± 0.01 ^{BCa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P<0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-D}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P<0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-b}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P>0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.



Şekil 4.29 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Sertlik Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişim

Pinto ve ark., (2019)'nın yapmış olduğu çalışmada da, bu çalışmayla benzer olarak, depolama süresince yoğurt örneklerinin sertlik değerlerinin arttığı; probiyotik hücre içeren mikrokapsül katkılı yoğurtların sertlik değerlerinin, kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada depolama süresince sertlik değerlerinin artması, yoğurtlarda pH'nın düşmesiyle jel yapısının sıkılaşmasına; mikrokapsül ilaveli yoğurtlarda sertliğin yüksek olması ise, kurumadde oranının kontrol örneğine göre yüksek olmasına atfedilmiştir (Pinto ve ark., 2019). Bu çalışmada da depolama süresince pH'nın düştüğü ve nanolif ilaveli yoğurtların kurumadde oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Nanolif ilaveli yoğurtlarda kurumadde oranının yüksek olmasının yanı sıra nanoliflerin yüksek oranda pullulan ve pektin gibi kıvam artırıcı bileşiklerden oluşması da bu farklılığa sebep olmuş olabilir (Wang ve ark., 2022). Li ve ark., (2021b)'nin çalışmasında mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneğinde sertlik değerinin, bu çalışmayla benzer olarak depolama süresince, genel olarak arttığı; serbest hücre içeren kontrol örneğinde ise genel olarak azaldığı; ayrıca bu çalışmayla benzer olarak, depolamanın sonlarında (14 ve 21. günlerinde) mikrokapsül içeren yoğurt örneğinde, kontrol örneğine göre sertlik değerlerinin daha yüksek olduğu

bildirilmiştir. Khorshidi ve ark., (2021)'nın çalışmasında ise, mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurtların sertlik değerlerinin, serbest hücre içeren örneğe göre, bu çalışmadan kısmen farklı olarak depolamanın her aşamasında önemli derecede daha yüksek olduğu ve bu çalışmayla kısmen benzer olarak depolama süresince bütün örneklerde sertlik değerlerinin önemli derecede arttığı bildirilmiştir.

4.4.4.2 Kıvam

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerinden kıvam ortalama değerleri arasındaki farklılıkların örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.31, P<0.05).

Çizelge 4.31 Yoğurt Örneklerinin Kıvam Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

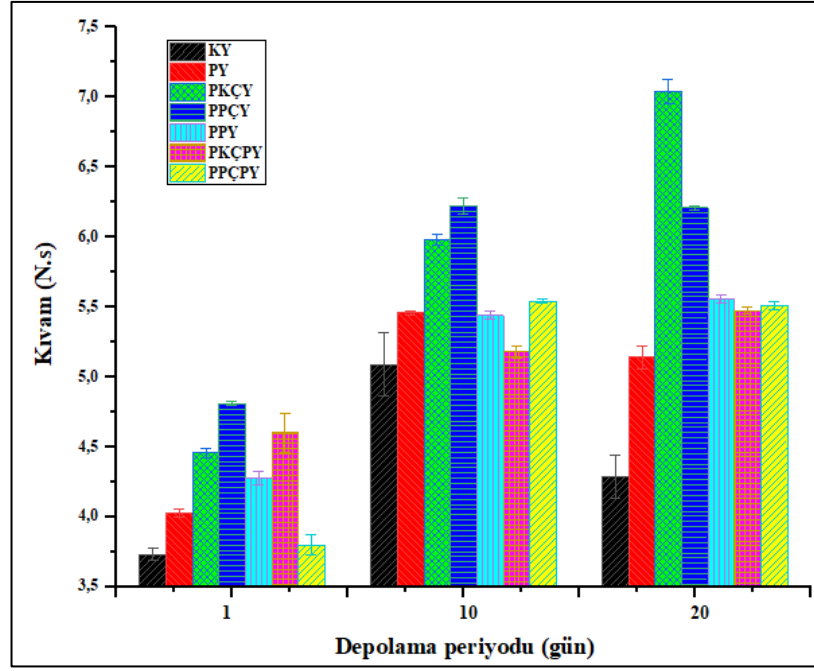
	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	9.2448	1.5408	245.96579	<0.0001
Depolama	2	16.72847	8.36424	1335.22577	<0.0001
İnteraksiyon	12	3.55603	0.29634	47.30559	<0.0001
Model	20	29.5293	1.47647	235.69567	<0.0001
Hata	21	0.13155	0.00626		
Düzeltilmiş Toplam	41	29.66085			

Çizelge 4.32 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Kıvam Ortalama Değerleri ve Standart Sapmaları

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	3.73 ± 0.04 ^{Fb}	5.09 ± 0.23 ^{Ca}	4.29 ± 0.15 ^{Eb}
PY	4.03 ± 0.03 ^{DEc}	5.46 ± 0.01 ^{Ba}	5.14 ± 0.08 ^{Db}
PKÇY	4.45 ± 0.04 ^{BCc}	5.98 ± 0.04 ^{Ab}	7.04 ± 0.09 ^{Aa}
PPÇY	4.81 ± 0.01 ^{Ab}	6.22 ± 0.06 ^{Aa}	6.21 ± 0.01 ^{Ba}
PPY	4.27 ± 0.05 ^{CDb}	5.44 ± 0.03 ^{BCa}	5.56 ± 0.03 ^{Ca}
PKÇPY	4.60 ± 0.14 ^{ABb}	5.18 ± 0.04 ^{BCa}	5.47 ± 0.02 ^{Ca}
PPÇPY	3.80 ± 0.07 ^{EFb}	5.54 ± 0.01 ^{Ba}	5.51 ± 0.03 ^{Ca}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar (P<0.05), farklı büyük harflerle (^{A-F}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar (P<0.05) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir (P>0.05). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPy: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Yapılan çalışmada, nanolif içeren yoğurt örneklerinin kıvam değerlerinin (Çizelge 4.32, Şekil 4.30) depolama süresince, kontrol örneğine göre önemli



Şekil 4.30 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Kıvam Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişim

derecede daha yüksek olduğu ($P < 0.05$); tüm örneklerde depolamanın 10. gününde, 1. güne göre önemli derecede daha yüksek olduğu; 20. günde KY ve PY örneklerinde düştüğü, PKÇY örneğinde arttığı ve diğer örneklerde ise önemli bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Li ve ark., (2021b) çalışmalarında depolamanın başında, bu çalışmadan farklı olarak, serbest hücre içeren kontrol örneğinin kıvam değerinin, mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren örneğe göre önemli derecede daha yüksek olduğu, diğer günlerde ise, bu çalışmayla benzer olarak, mikrokapsül içeren örnekte önemli derecede daha yüksek olduğu; ayrıca bu çalışmadan farklı olarak, kontrol örneğinde depolama süresince kıvam değerinin genel olarak önemli derecede düştüğü, mikrokapsül içeren örnekte ise önemli bir farklılık oluşmadığı bildirilmiştir. Li ve ark., (2020)'nin çalışmalarında ise mikrokapsül içermeyen yoğurt örneklerinde kıvam değerleri, bu çalışmadaki kontrol örneğine benzer olarak, depolamanın 14. gününe kadar genel olarak artmış ve 21. günde bir miktar düşmüştür. Aynı çalışmada, mikroenkapsüle probiyotik hücreleri içeren yoğurt örneklerinde, bu çalışmayla benzer olarak, kıvam değerleri depolama süresince genel olarak artmıştır. Ayrıca bu çalışmadan farklı olarak, mikrokapsül içeren yoğurt örneklerinin, içermeyenlere göre, kıvam değerlerinin genel olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bu durumun, post-asidifikasyonun jel yapısı üzerindeki

etkisinden kaynaklanmış olabileceğini ifade etmişlerdir (Li ve ark., 2020). Wang ve ark., (2023) çalışmalarında nanoenkapsüle fukoksantin içeren yoğurt örneğinin kıvam değerinin, depolamanın 1 ve 3. günlerinde, bu çalışmadan farklı olarak, içermeyen kontrol örneğine göre önemli derecede daha düşük olduğunu, depolamanın sonlarında (5 ve 7. günlerinde) ise, bu çalışmayla benzer olarak, daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, tüm örneklerde depolama süresince, bu çalışmadan farklı olarak, değerlerin düştüğü aktarılmıştır. Bu düşüşün sebebi olarak, yetersiz post-asidifikasyondan dolayı protein-protein interaksiyonunun zayıflaması gösterilmektedir (Wang ve ark., 2023). Bir diğer çalışmada, mikroenkapsüle tokotrienol içeren ve içermeyen (kontrol) set tipi yoğurt örneklerinin, kıvam değerleri arasında, bu çalışmadan farklı olarak, önemli bir farklılık olmadığı ve depolama süresince de önemli bir farklılık gözlemlenmediği bildirilmiştir (Tan ve ark., 2018). de Campo ve ark., (2019)'nın çalışmasında ise zeaksantin nanopartikülleri ve nanoemülsiyon ilaveli yoğurtlarda, nanopartikül/emülsiyonlarda su içeriğinin yüksek olmasından dolayı, kontrol örneğine göre, bu çalışmadan farklı olarak kıvam değerlerinin önemli derecede daha düşük olduğu; depolama süresince ise bu çalışmayla benzer olarak, bütün yoğurt örneklerinde değerlerin yükseldiği bildirilmiştir.

4.4.4.3 Yapışkanlık

Yapışkanlık, bir gıdanın yapısını oluşturan iç bağların kuvvetini göstermekte ve bağlılık olarak da bilinmektedir. Bir gıdanın yapışkanlık değeri, gıdada kırılma olmadan meydana gelen deformasyonun derecesini göstermektedir (Radocaj ve ark., 2011). İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerinden yapışkanlık ortalama değerleri arasındaki farklılıkların, örnek ve depolama periyodu açısından önemli ($P<0.05$); örnek*depolama periyodu interaksiyonu açısından ise önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.33, $P>0.05$).

Çizelge 4.33 Yoğurt Örneklerinin Yapışkanlık Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

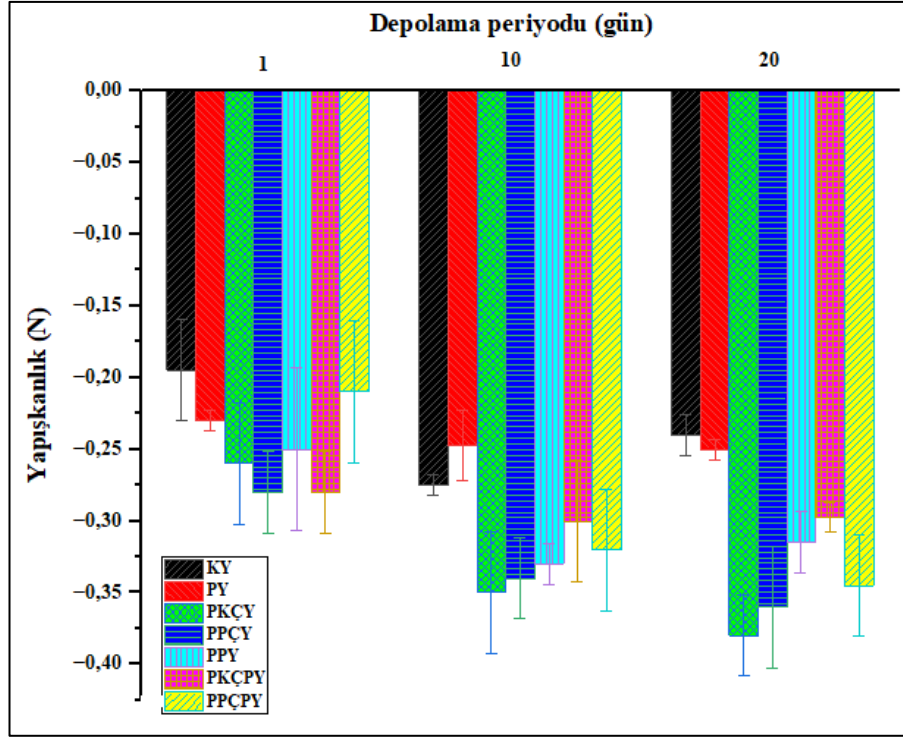
	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	0.04863	0.0081	7.70951	1.80995E-4
Depolama	2	0.04217	0.02108	20.05606	<0.0001
İnteraksiyon	12	0.01562	0.0013	1.23811	0.32225
Model	20	0.10641	0.00532	5.06133	2.52976E-4
Hata	21	0.02207	0.00105		
Düzeltilmiş Toplam	41	0.12848			

Çizelge 4.34 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Yapışkanlık Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	-0.20 ± 0.03 ^{Aa}	-0.27 ± 0.01 ^{Aa}	-0.24 ± 0.01 ^{Ca}
PY	-0.23 ± 0.01 ^{Aa}	-0.25 ± 0.02 ^{Aa}	-0.25 ± 0.01 ^{BCa}
PKÇY	-0.26 ± 0.04 ^{Aa}	-0.35 ± 0.04 ^{Aa}	-0.38 ± 0.03 ^{Aa}
PPÇY	-0.28 ± 0.03 ^{Aa}	-0.34 ± 0.03 ^{Aa}	-0.36 ± 0.04 ^{Aa}
PPY	-0.25 ± 0.06 ^{Aa}	-0.33 ± 0.01 ^{Aa}	-0.31 ± 0.02 ^{ABCa}
PKÇPY	-0.28 ± 0.03 ^{Aa}	-0.30 ± 0.04 ^{Aa}	-0.30 ± 0.01 ^{ABCa}
PPÇPY	-0.21 ± 0.05 ^{Aa}	-0.32 ± 0.05 ^{Aa}	-0.34 ± 0.03 ^{ABa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-C}). Sütun ve satırlarda aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY; pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY; enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Bu çalışmada Çizelge 4.34 ve Şekil 4.31'de görüldüğü gibi yoğurt örneklerinin yapışkanlık değerleri arasında, sertlik değerleri ile benzer olarak, depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmezken ($P > 0.05$), depolamanın 20. gününde nanolif katkılı yoğurtlarda yapışkanlık değerlerinin, kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). Depolama açısından irdelendiğinde ise depolama süresince, genel olarak yoğurt örneklerinin yapışkanlık değerleri artmış ancak bu artış istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($P > 0.05$). Ayrıca depolama sonunda, yapışkanlık değerlerinin PKÇY (-0.38) ve PPÇY (-0.36) örneklerinde diğerlerine göre önemli derecede daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, PKÇY ve PPÇY örneklerinde bulunan nanoliflerin daha fazla çözünerek, serbest hale geçen hidrokolloid polisakkaritlerin (pullulan, pektin vs.), yoğurt jelini güçlendirmiş olabileceğini düşündürmektedir (Frakolaki ve ark., 2021).



Şekil 4.31 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Yapışkanlık Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Bu çalışmayla benzer olarak, Li ve ark., (2021b)'nin çalışmalarında mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneği ile serbest hücre içeren kontrol örneğinin yapışkanlık değerleri arasında, depolamanın başlangıcında, anlamlı bir farklılık olmadığı, depolamanın diğer günlerinde ise mikrokapsül içeren örneğin yapışkanlık değerlerinin, kontrol örneğinden önemli derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada yapışkanlık değerlerinin bu çalışmadan farklı olarak, her iki örnekte depolamanın 7. gününde başlangıca göre önemli derecede arttığı, diğer günlerde kontrol örneğinde başlangıç değerinin altına düştüğü; mikrokapsül içeren örnekte ise başlangıç değerine kadar düştüğü bildirilmiştir. Khorshidi ve ark., (2021)'nin çalışmasında ise depolama süresince, mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurtlardan bir tanesinin (kapsülasyon malzemesi sadece aljinat olan) yapışkanlık değerinin, kısmen bu çalışmada olduğu gibi, serbest hücre içeren örnekle benzer olduğu; diğer örneklerde ise (mikrokapsülleri aljinat ve başka bileşiklerden üretilen) değerlerin önemli derecede daha düşük olduğu; ayrıca aynı çalışmada tüm örneklerde depolama süresince yapışkanlık değerlerinin, bu çalışmayla benzer olarak arttığı bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada, Pinto ve ark., (2019) depolama süresince

yapışkanlık değerlerinin bu çalışmadan farklı olarak, mikrokapsül içeren ve içermeyen yoğurt örneklerinin hepsinde azaldığını; mikrokapsül içeren ve içermeyen kontrol örnekleri arasında ise bu çalışmayla kısmen benzer olarak, önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

4.4.4.4 Viskozite İndeksi

Viskozite indeksi, gıdaların yapışkanlık ve kıvam özellikleriyle yakından ilişkilidir (Syahariza ve Yong, 2017). İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, yoğurt örneklerinin tekstürel özelliklerinden viskozite indeksi ortalama değerleri arasındaki farklılıkların örnek, depolama periyodu ve örnek*depolama periyodu interaksyonu açısından önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35 Yoğurt Örneklerinin Viskozite İndeksi Değerlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

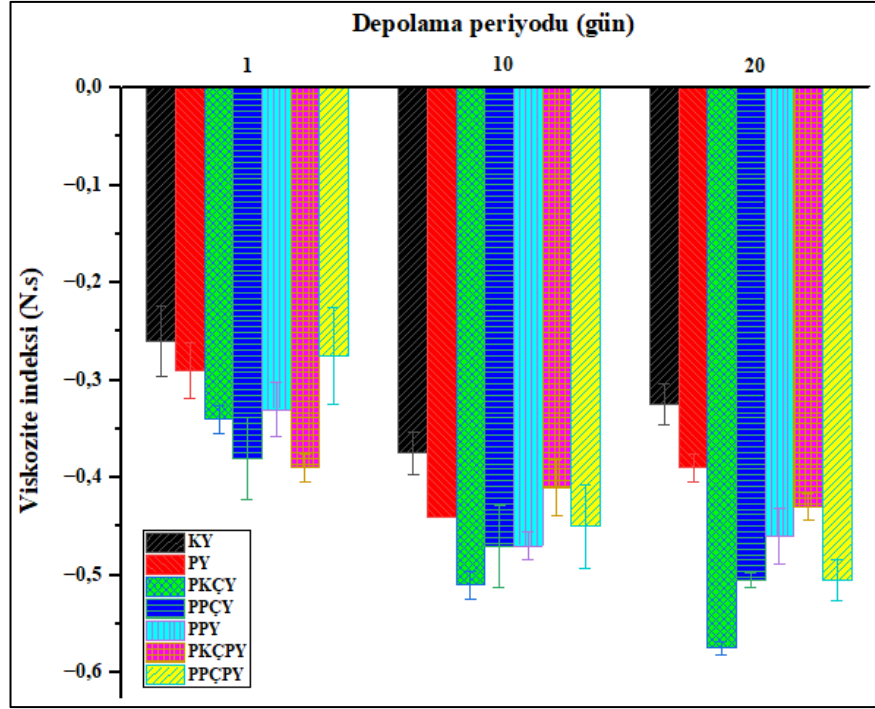
	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Örnek	6	0.09295	0.01549	21.76031	<0.0001
Depolama	2	0.15233	0.07616	106.98662	<0.0001
İnteraksiyon	12	0.04354	0.00363	5.09643	5.83538E-4
Model	20	0.28881	0.01444	20.28462	<0.0001
Hata	21	0.01495	7.11905E-4		
Düzeltilmiş Toplam	41	0.30376			

Çizelge 4.36 Yoğurt Örneklerinin Depolama Süresince Viskozite İndeksi Ortalama Değerleri ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	-0.26 ± 0.04 ^{Bb}	-0.37 ± 0.02 ^{Ba}	-0.32 ± 0.02 ^{Dab}
PY	-0.29 ± 0.03 ^{ABb}	-0.44 ± 0.00 ^{ABa}	-0.39 ± 0.01 ^{CDa}
PKÇY	-0.34 ± 0.01 ^{ABc}	-0.51 ± 0.01 ^{Ab}	-0.57 ± 0.01 ^{Aa}
PPÇY	-0.38 ± 0.04 ^{ABa}	-0.47 ± 0.04 ^{ABa}	-0.50 ± 0.01 ^{ABa}
PPY	-0.33 ± 0.03 ^{ABb}	-0.47 ± 0.01 ^{ABa}	-0.46 ± 0.03 ^{BCa}
PKÇPY	-0.39 ± 0.01 ^{Aa}	-0.41 ± 0.03 ^{ABa}	-0.43 ± 0.01 ^{Ca}
PPÇPY	-0.27 ± 0.05 ^{ABb}	-0.45 ± 0.04 ^{ABa}	-0.50 ± 0.02 ^{ABa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P<0.05$), farklı büyük harflerle (^{A-D}); aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P<0.05$) ise, aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-c}) belirtilmiştir. Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P>0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPy: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Bu çalışmada, nanolif içeren örneklerin viskozite indeks değerleri (Çizelge 4.36, Şekil 4.32), depolama süresince, içermeyen kontrol örneğine göre önemli



Sekil 4.32 Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Viskozite İndeksi Ortalama Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

derecede daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Ayrıca depolamanın 10. gününde, genel olarak bütün örneklerin viskozite indeks değerleri 1. güne göre önemli derecede artmış ($P < 0.05$) ve 20. günde kontrol örneğinde düşmüş, PKÇY örneğinde artmış, diğer örneklerde ise önemli bir farklılık görülmemiştir. Li ve ark., (2021b) çalışmalarında mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneği ile serbest hücre içeren kontrol örneğinin viskozite indeksi değerleri arasında, bu çalışmadan farklı olarak, depolamanın başlangıcı ve sonunda önemli bir farklılık olmadığını; 7 ve 14. günlerde ise, bu çalışmayla benzer olarak, mikrokapsül içeren örneğin viskozite indeksi değerlerinin, kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğunu; ayrıca her iki örnekte depolamanın 7. gününde, bu çalışmayla benzer olarak, viskozite indeksinin arttığını, depolamanın sonunda ise, başlangıç değerlerine düştüğünü bildirmişlerdir.

Li ve ark., (2020) da bu çalışmayla benzer olarak, mikroenkapsüle probiyotik hücre ve serbest hücre içeren bütün örneklerde, viskozite indeksinin depolamanın 7 ve 14. günlerinde önemli derecede arttığını, 21. gününde ise düştüğünü ve bu çalışmadan farklı olarak, mikrokapsül içeren örneklerin viskozite indeks değerlerinin, içermeyenlere göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum,

mikroenkapsüle probiyotik hücre içeren yoğurt örneklerinde, aşırı fermentasyona atfedilmiştir (Li ve ark., 2020). Bir başka çalışmada Wang ve ark., (2023) nanoenkapsüle fukoksantin içeren yoğurt örneğinin viskozite indeks değerinin depolamanın 1 ve 3. günlerinde, bu çalışmadan farklı olarak, içermeyen kontrol örneğine göre önemli derecede daha düşük olduğunu, depolamanın sonlarında (5 ve 7. günlerinde) ise, bu çalışmayla benzer olarak, daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, tüm örneklerde depolama süresince, bu çalışmadan farklı olarak, değerlerin düştüğü aktarılmıştır. Araştırmacılar, yoğurt jel matrisinin depolama süresince yeniden şekillenebildiği ve bu olayın, tekstürel özellikleri olumsuz yönde etkileyebileceğini bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2023).

Bu çalışmada, depolama sonunda kontrol örneğinde (KY) jel yapısının bozulma eğiliminde olduğu görülmektedir; ancak nanolif ilaveli yoğurtlarda bu durum genel olarak görülmemektedir. Dolayısıyla nanolif ilavesinin, yoğurdun tekstürel özelliklerini olumlu yönde etkilediği söylenebilmektedir (de Campo ve ark., 2019).

4.4.5 Duyusal Değerlendirme Bulguları

Bu çalışmada, nanolif içermeyen (KY) ve nanolif içeren probiyotikli yoğurt örnekleri, 10 kişilik panelist grubu tarafından depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde duyusal olarak test edilmiş ve elde edilen değerlendirme puanları istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analiz verilerine göre yoğurt örneklerinin duyusal özelliklerinden görünüş-renk, yapı-kıvam ve genel kabul edilebilirlikleri arasındaki farklılıklar, örnek ve örnek*depolama interaksyonu açısından önemsiz ($P>0.05$) ve depolama periyodu açısından önemli görülmüştür ($P<0.05$). Örneklerin lezzet özellikleri arasındaki farklılıklar ise, örnek ve depolama periyodu açısından önemli ($P<0.05$), örnek*depolama interaksyonu açısından önemsiz görülmüştür (Çizelge 4.37, $P>0.05$).

Çizelge 4.37 Yoğurt Örneklerinin Duyusal Değerlendirme Puanlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

		Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Görünüş-Renk	Örnek	6	0.04756	0.00793	0.35963	0.9036
	Depolama	2	0.79069	0.39535	17.93647	<0.0001
	İnteraksiyon	12	0.05247	0.00437	0.19839	0.99841
	Model	20	0.89073	0.04454	2.02057	0.00809
	Hata	189	4.16584	0.02204		
	Düzeltilmiş	209	5.05656			
	Toplam					
Yapı-Kıvam	Örnek	6	0.13561	0.0226	1.08394	0.37353
	Depolama	2	0.26992	0.13496	6.47237	0.00191
	İnteraksiyon	12	0.11572	0.00964	0.46247	0.93431
	Model	20	0.52125	0.02606	1.2499	0.21824
	Hata	189	3.941	0.02085		
	Düzeltilmiş	209	4.46225			
	Toplam					
Lezzet	Örnek	6	1.06646	0.17774	6.52209	<0.0001
	Depolama	2	0.32573	0.16287	5.97622	0.00304
	İnteraksiyon	12	0.05379	0.00448	0.16449	0.99938
	Model	20	1.44598	0.0723	2.65294	3.15027E-4
	Hata	189	5.15071	0.02725		
	Düzeltilmiş	209	6.5967			
	Toplam					
Genel Kabul Edilebilirlik	Örnek	6	0.23584	0.03931	2.13695	0.05103
	Depolama	2	1.14104	0.57052	31.01704	<0.0001
	İnteraksiyon	12	0.03992	0.00333	0.18084	0.999
	Model	20	1.4168	0.07084	3.85129	<0.0001
	Hata	189	3.47642	0.01839		
	Düzeltilmiş	209	4.89322			
	Toplam					

Panelistler, deneme yoğurt örneklerinin görünüş-renk özelliklerini değerlendirirken, örneklerde fiziksel özelliklerle birlikte renk, homojenlik ve görsel lezzet gibi özellikleri dikkate almışlardır. Tüm yoğurt örneklerinin görünüş-renk özellikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık panelistler tarafından tespit edilmemiştir ($P>0.05$); ancak depolamanın 10 ve 20. günlerinde kontrol örneğinin (KY), nanolif içeren örneklerden daha fazla puan aldığı görülmektedir (Çizelge 4.38). Bu durum, depolama süresince nanolif yapılarının dağılarak, çözünmesi ve buna bağlı olarak yoğurdun beyaz renginin ve renk homojenliğinin olumsuz etkilenmesinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü çalışmada üretilen nanoliflerin, genel olarak beyaz renkte oldukları ancak suda çözüldüklerinde farklı renklerin oluştuğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.38 Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Görünüş- Renk Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	2.83 ± 0.12 ^{Aa}	2.79 ± 0.08 ^{Aa}	2.70 ± 0.21 ^{Aa}
PY	2.81 ± 0.10 ^{Aa}	2.75 ± 0.13 ^{Aab}	2.64 ± 0.20 ^{Ab}
PKÇY	2.81 ± 0.11 ^{Aa}	2.72 ± 0.16 ^{Aa}	2.66 ± 0.14 ^{Aa}
PPÇY	2.81 ± 0.10 ^{Aa}	2.74 ± 0.13 ^{Aa}	2.68 ± 0.12 ^{Aa}
PPY	2.79 ± 0.11 ^{Aa}	2.74 ± 0.13 ^{Aa}	2.69 ± 0.25 ^{Aa}
PKÇPY	2.81 ± 0.10 ^{Aa}	2.73 ± 0.19 ^{Aa}	2.64 ± 0.18 ^{Aa}
PPÇPY	2.83 ± 0.08 ^{Aa}	2.72 ± 0.16 ^{Aab}	2.62 ± 0.17 ^{Ab}

Aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$), aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-b}) belirtilmiştir. Sütun ve satırlarda aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Ghorbanzade ve ark., (2022) çalışmalarında da bu çalışmayla benzer şekilde, istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte kontrol yoğurt örneğinin görünüş-renk özelliğinin, β -siklodekstrin ile nanoenkapsüle edilmiş balık yağı içeren örnekten, daha yüksek puanlar aldığı bildirilmiştir. Pour ve ark., (2022) ise peyniraltı suyu proteini, gam maddesi ve zeytin yağı ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik hücreleri yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında, bu çalışmayla benzer olarak, örneklerin renk özellikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

Depolama süresince bakıldığında; tüm örneklerde görünüş-renk özelliğine verilen puanların depolamayla azaldığı görülmektedir. Bu durum, tüm örneklerde depolamayla serum ayrılmasının artması ve ayrıca nanolif içeren örneklerde rengin de olumsuz etkilenmesinden kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte PY ve PPÇPY hariç, tüm örneklerin görünüş-renk puanlarında depolamaya bağlı düşüş olması, istatistiksel olarak önemli görülmemiştir.

Yoğurt örneklerinin tekstürel özellikleri olarak da bilinen yapı-kıvam özellikleri, panelistler tarafından kaşıkla dokunma-karıştırma (sertlik-yumuşaklık) ve tüketirken ağızda bıraktığı his (yapışkanlık, yağlılık ve pütürlülük) şeklinde değerlendirilmiştir. Değerlendirme puanları, istatistiksel olarak önemli görülmemekle birlikte ($P > 0.05$), depolamanın 10 ve 20. günlerinde nanolif içeren yoğurt örneklerinin, kontrol örneğinden (KY) daha yüksek puanlar aldığını

göstermektedir (Çizelge 4.39). Bu durum nanoliflerin, zamanla ortamdaki serbest suyu bağladığını ve buna bağlı olarak nanolif içeren örneklerde yapı-kıvamın daha çok beğenildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.39 Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Yapı-Kıvam Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	2.79 ± 0.17 ^{Aa}	2.74 ± 0.13 ^{Aa}	2.64 ± 0.20 ^{Aa}
PY	2.81 ± 0.13 ^{Aa}	2.81 ± 0.10 ^{Aa}	2.69 ± 0.22 ^{Aa}
PKÇY	2.81 ± 0.13 ^{Aa}	2.83 ± 0.12 ^{Aa}	2.73 ± 0.21 ^{Aa}
PPÇY	2.79 ± 0.11 ^{Aa}	2.84 ± 0.10 ^{Aa}	2.77 ± 0.12 ^{Aa}
PPY	2.77 ± 0.09 ^{Aa}	2.83 ± 0.08 ^{Aa}	2.77 ± 0.19 ^{Aa}
PKÇPY	2.79 ± 0.08 ^{Aa}	2.80 ± 0.21 ^{Aa}	2.76 ± 0.09 ^{Aa}
PPÇPY	2.77 ± 0.09 ^{Aa}	2.86 ± 0.07 ^{Aa}	2.75 ± 0.20 ^{Aa}

Sütün (^A) ve satırlarda (^a) aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir (P>0.05). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Ghorbanzade ve ark., (2022) nanoenkapsüle balık yağına yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında ve Kailasapathy (2006), mikroenkapsüle *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini yoğurda ilave ettiği çalışmasında da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Ayrıca istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte (P>0.05) nanolif içermeyen örnekte (kontrol örneği, KY) yapı-kıvamın depolamayla olumsuz etkilendiği; nanolif içeren örneklerde ise depolamanın 10. gününde yapı-kıvam özelliğinin 1. güne göre daha yüksek puanlar aldığı ve 20. günde puanların düştüğü görülmektedir. Bu durum, kontrol örneğinde depolama süresince yoğurt jelinin olumsuz etkilendiğini ve nanolif içeren örneklerde ise, nanoliflerin zamanla ortamdaki serbest suyu bağlayarak jel yapısını desteklediğini göstermektedir. Enstrümental olarak yapılan tekstürel değerlendirmeler de bu sonuçları doğrulamaktadır.

Lezzet, tat ve kokunun bileşimidir. Panelistlerin kontrol yoğurt örneğini (KY), depolamanın 20. günü hariç, nanolif içeren yoğurt örneklerinden önemli derecede daha fazla beğendiği görülmektedir (P<0.05, Çizelge 4.40).

Çizelge 4.40 Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Lezzet Özelliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	2.93 ± 0.09 ^{Aa}	2.91 ± 0.09 ^{Aa}	2.88 ± 0.08 ^{Aa}
PY	2.84 ± 0.15 ^{ABa}	2.79 ± 0.08 ^{ABa}	2.73 ± 0.21 ^{Aa}
PKÇY	2.82 ± 0.17 ^{ABa}	2.75 ± 0.13 ^{ABa}	2.70 ± 0.18 ^{Aa}
PPÇY	2.77 ± 0.15 ^{ABa}	2.72 ± 0.16 ^{ABa}	2.66 ± 0.19 ^{Aa}
PPY	2.75 ± 0.16 ^{ABa}	2.68 ± 0.22 ^{Ba}	2.70 ± 0.15 ^{Aa}
PKÇPY	2.77 ± 0.15 ^{ABa}	2.67 ± 0.27 ^{Ba}	2.66 ± 0.16 ^{Aa}
PPÇPY	2.74 ± 0.13 ^{Ba}	2.70 ± 0.15 ^{ABa}	2.64 ± 0.24 ^{Aa}

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P < 0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-B}). Sütun ve satırlarda aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPy: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumada üzerinden %5'tir.

Bu durum, nanolif ilavesiyle yoğurdun kendine özgü lezzetinin baskılanmış olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte nanolif ilaveli yoğurt örneklerinin lezzet özelliklerine ait ortalama puanlar (10 üzerinden 7-8.1), bu yoğurtların lezzetlerinin iyi ile çok iyi arasında değerlendirildiğini göstermektedir. Kontrol örneği ise (10 üzerinden 8.3-8.6), çok iyi-mükemmel arasında değerlendirilmiştir. Ghorbanzade ve ark., (2022) çalışmalarında da benzer şekilde kontrol yoğurt örneğinin lezzet açısından, β -siklodekstrin ile nanoenkapsüle edilmiş balık yağı içeren örnekten daha çok beğenildiği; Kailasapathy (2006)'nin, mikroenkapsüle *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini yoğurda ilave ettiği çalışmasında mikroenkapsüle hücreleri içeren yoğurdun, serbest hücre içeren yoğurt örneğine göre daha az beğenildiği ancak bu çalışmadan farklı olarak lezzet puanları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca istatistiksel olarak önemli görülmesi de ($P > 0.05$) depolama süresince tüm örneklerde lezzet puanlarının düştüğü görülmektedir. Bu durum ise, depolamayla yoğurt örneklerinde asitliğin artmış olmasından kaynaklanmış olabilir.

Panelistler, yoğurt örneklerinin tüm duyuşsal özelliklerini bir arada değerlendirerek, genel kabul edilebilirlik puanlarını oluşturmuşlardır (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41 Deneme Yoğurt Örneklerinin Depolama Periyodu Süresince Genel Kabul Edilebilirliklerine Verilen Ortalama Puanlar ve Standart Sapmalar

Örnek	Depolama		
	1. gün	10. gün	20. gün
KY	2.93 ± 0.09 ^{Aa}	2.83 ± 0.08 ^{Ab}	2.75 ± 0.09 ^{Ab}
PY	2.91 ± 0.12 ^{Aa}	2.79 ± 0.08 ^{Aab}	2.72 ± 0.13 ^{Ab}
PKÇY	2.90 ± 0.12 ^{Aa}	2.75 ± 0.13 ^{Ab}	2.70 ± 0.13 ^{Ab}
PPÇY	2.88 ± 0.12 ^{Aa}	2.73 ± 0.16 ^{Aab}	2.70 ± 0.12 ^{Ab}
PPY	2.86 ± 0.11 ^{Aa}	2.73 ± 0.16 ^{Aab}	2.69 ± 0.13 ^{Ab}
PKÇPY	2.84 ± 0.10 ^{Aa}	2.71 ± 0.29 ^{Aa}	2.64 ± 0.15 ^{Aa}
PPÇPY	2.81 ± 0.13 ^{Aa}	2.75 ± 0.13 ^{Aa}	2.68 ± 0.12 ^{Aa}

Aynı örneğin depolama süresince ortalama değerleri arasındaki önemli farklılıklar ($P < 0.05$), aynı satırda, farklı küçük harflerle (^{a-b}) belirtilmiştir. Sütun ve satırlarda aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P > 0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PPy: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapsüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

Bu puanlara göre, istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmamakla birlikte kontrol örneğinin (KY), nanolif içeren yoğurtlardan daha fazla beğenildiği görülmektedir. Kailasapathy (2006), mikroenkapsüle *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini yoğurda ilave ettiği; Pour ve ark., (2022) ise peyniraltı suyu proteini, gam maddesi ve zeytin yağ ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik hücreleri yoğurda ilave ettikleri çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Depolama süresince ise, tüm örneklerde genel kabul edilebilirlik puanlarının düştüğü ve bu durumun, PKÇPY ve PPÇPY dışında, tüm örneklerde istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada meyve endüstriyel atıkları için yeni kullanım alanlarının bulunması amaçlanmış ve Dünya’da en çok işlenen meyvelerden Portakal ve Ordu ilinde yaygın bir şekilde yetiştirilen Kivi meyveleri seçilerek, bunların endüstriyel atıklarının, son zamanlarda yaygın bir şekilde çalışılan elektrospinning yöntemiyle nanolif üretiminde ve probiyotik hücrelerin nanoliflerde enkapsülasyonlarında kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Nanolif üretiminde meyve endüstriyel atıkları olarak, portakal ve kivi posalarının önemli miktarlarda çözünür diyet lif (ÇDL) içeriğine sahip suda çözünür fraksiyonları (KÇF ve PÇF) kullanılmıştır. Bu sulu ekstraktlar tek başlarına elektrospinlenemedikleri için bunlardan boş ve enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren nanoliflerin üretiminde yardımcı madde olarak pullulan kullanılmıştır. Ayrıca bu nanoliflerin üretiminde, çeşitli etkilerini tespit etmek amacıyla gliserol de kullanılmıştır. Elektrospinning koşulları ön çalışmalarla belirlenmiş ve voltaj 15 kV, çözelti besleme hızı 0.9 mL/h ve şırınga iğne ucu ile kollektör arası mesafe 14 cm seçilmiştir. Nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin son konsantrasyonları %13 olarak ayarlanmıştır. KÇF/PÇF çözeltilerinin polimer çözeltilerindeki oranları, çözünür kurumaddeye göre hesaplanarak, %5 (pullulan %95), 10 (pullulan %90) ve 15 (pullulan %85) seçilmiş ve bu oranlarda başarılı bir şekilde nanolifler üretilmiştir. Ancak probiyotik hücre içeren nanoliflerin üretiminde, KÇF/PÇF’nin yüksek oranlarda kullanılması üretimi zorlaştırdığı için en uygun oran olarak %5 seçilmiştir. Gliserol içeren nanoliflerin üretiminde ise, polimer çözeltileri %3 oranında gliserol içerecek şekilde ayarlama yapılmıştır.

Nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin fiziksel özellikleri, nanolif morfolojisi üzerinde önemli etkilere sahip olduğundan, bu çalışmada nanolif üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin bazı fiziksel özellikleri nicel olarak incelenmiştir. Bu incelemeler neticesinde pullulan polimer çözeltisine (PS, 0.220), KÇF (kivi posası tozu suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası tozu suda çözünür fraksiyonları), ayrı ayrı eklendiklerinde, KÇF’nin etkisi daha fazla olmak üzere, oluşan çözeltilerde (PKÇS ve PPÇS için sırasıyla, 0.164 ve 0.202) viskozitenin önemli derecede düştüğü görülmektedir ($P < 0.05$). PS, PKÇS ve PPÇS çözeltilerine gliserol (G), probiyotik *Lactobacillus acidophilus* hücreleri (P) ve

gliserol+probiyotik hücreler (G+P), ayrı ayrı eklendiklerinde ise, oluşan çözeltilerde viskozitenin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). Pullulan polimer çözeltisine (PS, 29.8), KÇF ve PÇF eklendiklerinde, KÇF'nin etkisi daha fazla olmak üzere, oluşan çözeltilerde (PKÇS ve PPÇS için sırasıyla, 792.5 ve 193.5) iletkenliğin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). PS çözeltisine gliserol eklendiğinde, önemli olmamakla birlikte iletkenlik artmış (PGS, 34.6) ve PKÇS ile PPÇS çözeltilerine gliserol ilave edildiğinde ise, oluşan karışımlarda (PKÇGS ve PPÇGS için sırasıyla, 664.5 ve 172) iletkenlik önemli derecede azalmıştır ($P<0.05$). Ayrıca probiyotik hücre ilavesiyle oluşan karışımlarda (PPS, PKÇPS, PPÇPS, PGPS, PKÇGPS ve PPÇGPS) iletkenliğin önemli derecede arttığı görülmektedir ($P<0.05$).

Üretilen nanoliflerin SEM görüntüleri incelenmiş ve tüm polimer çözeltilerinin başarılı bir şekilde nanoliflere dönüştürüldüğü görülmüştür. SEM görüntüleri, gliserol ve/veya probiyotik içermeyen PF, PKÇF ve PPÇF nanolif ağlarının, genel olarak düzgün, pürüzsüz, ve kusursuz bir morfolojiye sahip olduklarını göstermektedir. Nanoliflerin çaplarını kıyaslamak için SEM görüntüleri üzerinden image programı ile nanoliflerin çapları ölçülmüştür. KÇF/PÇF ilaveli nanoliflerin (81-170 nm), sadece pullulan (241 nm) içeren nanoliflere göre, ortalama çaplarının daha küçük olduğu ve KÇF/PÇF oranları arttıkça, oluşan nanoliflerin ortalama çaplarının genel olarak önemli derecede daha küçük olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Ayrıca bu çalışmada gliserol katkılı nanoliflerin üretiminde ve probiyotik *L. acidophilus* hücrelerinin nanoliflerle enkapsülasyonunda, elektrospinnenebilirliği daha kolay olduğu için çözünür kurumadde üzerinden %100 pullulan (P), %5KÇF-%95P ve %5PÇF-%95P içeren polimer çözeltileri kullanılmış ve gliserol ve/veya hücre içeren nanoliflerin ortalama çaplarının önemli derecede daha yüksek oldukları tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Elektrospun nanoliflerinde KÇF, PÇF, gliserol ve probiyotik hücrelerin varlığını incelemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılarak, KÇF ve PÇF tozları, gliserol ve/veya *Lactobacillus acidophilus* hücrelerini içeren/içermeyen pullulan, pullulan/KÇF ve pullulan/PÇF nanoliflerinin yapısal analizleri yapılmıştır. Bu analizler sonucunda nanoliflerin üretiminde kullanılan bileşiklerin yapılarının, farklı nanoliflerde farklı pikler gösterdiği ve bu piklerin yoğunluklarında da farklılıklar meydana geldiği görülmüştür. Bazı piklerin

yoğunluklarının farklı olması ve farklı nanoliflerde aynı bileşiklerin yapılarına ait piklerin yer değiştirmesi (kayması), polimer çözeltilerinde bulunan PÇF, KÇF, gliserol ve *Lactobacillus acidophilus*'un, pullulanla birlikte başarılı bir şekilde nanoliflere dönüştüğünü ve bu bileşikler arasında interaksiyonların oluşmuş olabileceğini göstermektedir.

Nanolif örneklerinin termal davranışları veya stabiliteleri, Termogravimetrik ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre analiz cihazı (TG-DSC) kullanılarak değerlendirilmiştir. TG-DSC analiz sonuçlarına göre her bir nanolif örneğinin termal stabilitesinin ve bozunma sırasında verdiği ısı miktarının farklı olduğu görülmüş ve dolayısıyla bu durum, FTIR analiz sonuçlarında olduğu gibi, nanolif üretiminde kullanılan KÇF, PÇF ve gliserolün de pullulanla birlikte nanoliflerin yapılarında yer aldığını göstermektedir.

Zeta potansiyeli, bir kolloidal dispersiyon ortamında kolloidal halde dağılmış parçacıkların, fizikokimyasal ve biyolojik stabilitelerini ortaya çıkaran önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada nanoliflerin zeta potansiyel değerleri incelendiğinde; sadece pullulan kullanılarak üretilen nanolifin zeta değerlerinin (-14.97 ve -19.33) önemli derecede daha düşük olduğu ($P < 0.05$) ve pullulanla birlikte KÇF ve PÇF içeren nanoliflerde (PKÇF ve PPÇF) zeta potansiyel değerlerinin (sırasıyla, -17.07 - (-30.50) ve -30.23 - (-32.87)) önemli derecede arttığı görülmüştür. Ayrıca gliserol ve probiyotik hücre ilavesiyle de pullulan nanolifinin (PF) zeta potansiyel değerinin arttığı tespit edilmiştir.

Lactobacillus acidophilus hücrelerini enkapsüle şekilde içeren nanoliflerin üretiminde kullanılan polimer çözeltilerinin hazırlanması süreci sonunda, yapı malzemesi olarak sadece pullulan içeren ve gliserol ilaveli tüm çözeltilerde *L. acidophilus* canlı hücre sayılarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Elektrospinning süreci sonunda ise, KÇF/PÇF ilaveli çözeltilerden üretilen nanoliflerde hücre canlılık sayılarının daha yüksek seviyelerde kaldığı ve dolayısıyla canlılık kayıplarının önemli derecede daha düşük olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada üretilen ve diyet lif ile probiyotik içeriklerinden dolayı fonksiyonel özelliklere sahip nanoliflerin, fonksiyonel gıdalar üretmek amacıyla gıdalara ilavesinde, gıdaların çeşitli özelliklerine etkisi ve gıda ortamında

probiyotiklerin canlılıklarının nasıl etkileneceğini tespit etmek amacıyla model gıda olarak yoğurt seçilmiştir. Gliserol içeren nanoliflerin, su ortamında daha yavaş çözüldükleri görüldüğünden, yoğurt örneklerine gliserol içeren nanolifler (%3 oranında) katılmıştır. Yoğurt ortamında depolama süresince, enkapsüle şekilde nanoliflerde bulunan *L. acidophilus* hücrelerinin canlılıklarının önemli derecede daha fazla korunduğu ve serbest şekilde nanoliflerle birlikte yoğurt ortamında bulunan hücrelerin canlılık sayılarının da nanolif içermeyen yoğurt ortamında (kontrol) serbest halde bulunan hücrelerden, daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca invitro gastrointestinal koşullarda da benzer şekilde, *L. acidophilus* hücrelerinin enkapsüle şekilde nanoliflerde bulunmasının ve sonra ise, serbest halde nanoliflerle bir arada bulunmasının, canlılıklarını nanolif içermeyen yoğurt örneğinde (KY) bulunan hücrelere göre daha fazla koruduğu tespit edilmiştir. Nanoliflerin yoğurt kültürü olan *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* canlılık sayılarına etkilerinin ise, belirgin olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada nanolif katkılı yoğurt örneklerinin % kurumadde oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($P>0.05$), nanolif katkılı yoğurtların (%13.91-14.20), nanolif içermeyen kontrol örneğine (%12.18) göre önemli miktarlarda daha fazla kurumadde içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ayrıca hem nanolif içeren örnekler arasında hem de nanolif içerenler ile kontrol olarak içermeyen yoğurt örnekleri arasında, kül oranları açısından, istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı bulunmuştur.

Çalışmada, önemli olmamakla birlikte genel olarak kontrol örneğinin (KY) pH değeri, diğer örneklere göre (nanolif içeren) daha düşük ve titrasyon asitliği değeri ise, daha yüksek bulunmuştur. Depolama süresince ise, tüm örneklerde beklendiği şekilde, pH düşmüş ve titrasyon asitliği artmıştır.

Sineresis olarak da bilinen serum ayrılması, yoğurdun duyu kalitesini ve tüketici tarafından kabul edilebilirliğini ciddi şekilde etkileyebilen bir olaydır. Bu çalışmada, yoğurt örneklerinin hepsinde depolama süresince, belli miktarlarda serum ayrılması görülmekle birlikte nanolif katkılı yoğurtlarda ayrılan serum miktarı, kontrol örneğine oranla önemli derecede daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Yoğurt örneklerinin DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme aktiviteleri, troloks eşdeğeri olarak (mg/L) depolamanın başlangıcında sırasıyla, 6.85-9.51 ve 6.27-7.74; depolamanın sonunda ise sırasıyla, 9.33-12.43 ve 12.33-13.48 bulunmuştur. Bu değerlerin literatürde bildirilen değerler aralığında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca özellikle bileşiminde KÇF ve PÇF bulunan nanolifleri içeren yoğurt örneklerinde daha yüksek olmak üzere, tüm nanolif katkılı yoğurt örneklerinin antioksidan aktivite değerleri, kontrol örneğinden (KY) daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte örneklerin DPPH serbest radikal süpürme aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığı ($P>0.05$); ABTS serbest radikal süpürme aktivite değerleri arasında ise, depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Tekstürel özellikler olarak bu çalışmada yoğurt örneklerinin sertlik, kıvam, yapışkanlık ve viskozite indeksi değerleri belirlenmiştir. Yoğurt örneklerinin sertlik ve yapışkanlık değerleri incelendiğinde; depolamanın 1 ve 10. günlerinde, nanolif içerenlerin kontrol örneğine göre yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemektedir ($P>0.05$). Depolamanın 20. gününde ise, nanolif katkılı yoğurtlarda sertlik ve yapışkanlık değerlerinin, kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca nanolif içeren yoğurt örneklerinin kıvam ve viskozite indeksi değerlerinin, depolama süresince kontrol örneğine göre önemli derecede daha yüksek olduğu görülmüştür ($P<0.05$).

Çalışmada nanolif ilavesinin, yoğurtların duyuşsal özelliklerine etkilerini tespit etmek amacıyla duyuşsal testler de yapılmıştır. Panelistler tarafından tüm yoğurt örneklerinin görünüş-renk, yapı-kıvam ve genel kabul edilebilirliklerine verilen puanlar, istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve örnekler arasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ancak panelistlerin, lezzet açısından kontrol yoğurt örneğini (KY), nanolif içeren yoğurt örneklerinden önemli derecede daha fazla beğendiği görülmüştür ($P<0.05$). Bununla birlikte nanolif ilaveli yoğurt örneklerinin lezzet özelliklerine ait ortalama puanlar, bu yoğurtların lezzetlerinin iyi ile çok iyi arasında değerlendirildiğini göstermektedir. Dolayısıyla nanolif ilavesiyle üretilen fonksiyonel yoğurt örneklerinin, duyuşsal kalite açısından kabul edilebilir oldukları tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda şunları söyleyebiliriz:

1. Portakal ve kivi posalarından elde edilen ve önemli miktarlarda çözünür diyet lif içeriğine sahip sulu ekstraktlardan (sırasıyla, PÇF ve KÇF), pullulan yardımıyla, nanoliflerin üretilmesi ve bu nanoliflerle probiyotik hücrelerin enkapsülasyonları başarılı bir şekilde yapılmıştır. Dolayısıyla bu meyvelerin kabuklarının ve diğer meyvelerin endüstriyel atıklarının da bu şekilde değerlendirilebilmeleri için çalışmalar yapılabilir.

2. PÇF ve KÇF kullanımıyla pullulan polimer çözeltisinin iletkenlik ve viskozite gibi elektrospinning ile nanolif üretiminde son derece önemli olan özellikleri, düşük bir maliyetle iyileştirilmiştir. Diğer doğal ve sentetik polimer çözeltilerinde ne yönde etkiler yapacağını tespit etmek amacıyla çalışmalar yapılabilir.

3. PKÇ ve KÇF kullanımıyla, *Lactobacillus acidophilus* hücrelerinin elektrospinning yöntemiyle enkapsülasyonlarında ve yoğurt ortamında canlılıkları önemli derecede korunmuştur. Dolayısıyla elektrospinning ile enkapsülasyonlarda ve gıda ortamlarında probiyotik hücrelerin canlılıklarını muhafaza etmek için inülin ve fruktooligosakkarit gibi prebiyotiklerin yerine meyve endüstriyel atıklarından elde edilen düşük maliyetli sulu ekstraktların kullanılabilmesi düşünülmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada PKÇ ile KÇF'nin etkileri arasında net bir farklılık tespit edilememiştir. Dolayısıyla hangisinin daha etkili olduğunu tespit etmek için nanoliflerdeki PKÇ ve KÇF oranlarının artırılması ve farklı oranların denenmesi için çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca diğer enkapsülasyon yöntemlerinde ve farklı gıdalarda nasıl sonuçlar vereceğini tespit etmek için de çalışmalar yapılabilir.

4. Gliserol içeren nanoliflerin, su ve yoğurt ortamında gliserol içermeyen nanoliflere göre önemli derecede daha yavaş çözüldükleri görülmüştür. Ancak nanoliflerin çözünürlüklerini daha fazla yavaşlatmak için, probiyotik hücreler üzerinde olumsuz etkileri olmayan, başka yöntemlerin bulunması için yeni çalışmaların yapılması önemli görülmektedir. Ayrıca bu çalışmada nanoliflerin gliserol içermelerinin, *Lactobacillus acidophilus* hücreleri ve yoğurdun duyuşal özellikleri üzerinde belirgin olumsuz etkileri görülmemiştir. Bu bağlamda enkapsüle şekilde probiyotik hücre içeren nanoliflerin, dondurucu sıcaklıklarda muhafaza

edilmelerinde, bir kriyoprotektan olan gliserolün kullanılabileceği düşünölmektedir. Bu konuda ve PÇF/KÇF'nin de kriyoprotektan özelliklerinin olup/olmadığını tespit etmek amacıyla çalışmalar yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

- AACC. (2001). The definition of dietary fiber, *Cereal Foods World*, 46, pp. 112-126 Association of Analytical Cereal Chemists Report, Arlington.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, MM., Hu, B., Lei, S. & Zeng, X. (2014). Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 93-97. doi:10.1016/j.ultsonch.2013.06.002
- Afolayan, AJ. & Jimoh, FO. (2009). Nutritional quality of some wild leafy vegetables in South Africa. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(5), 424-431. doi:10.1080/09637480701777928
- Afzaal, M., Khan, AU., Saeed, F., Ahmed, A., Ahmad, MH., Maan, AA., Tufail, T., Anjum, FM. & Hussain, S. (2019). Functional exploration of free and encapsulated probiotic bacteria in yogurt and simulated gastrointestinal conditions. *Food Science & Nutrition*, 7(12), 3931-3940. doi:10.1002/fsn3.1254
- Akalın, AS., Kesenkas, H., Dinkci, N., Unal, G., Ozer, E. & Kınık, O. (2018). Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 37-46. doi:10.3168/jds.2017-13468
- Akan, E. (2022). The effect of fermentation time and yogurt bacteria on the physicochemical, microbiological and antioxidant properties of probiotic goat yogurts. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 94(3), e20210875. doi:10.1590/0001-3765202220210875
- Álvarez, AR. & Peña-Valdivia, CB. (2009). Structural polysaccharides in xoconostle (*Opuntia matudae*) fruits with different ripening stages. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 11, 26-44.
- Amir, AB., Dahalan, FA., Anjarwati, L. & Kurniawan, WR. (2022). Assesment of microbiological growth on surgical face mask. *Environmental and Toxicology Management*, 2(3), 6-9. doi:10.33086/etm.v2i3.3557
- Amjadi, S., Gholizadeh, S., Ebrahimi, A., Almasi, H., Hamishehkar, H. & Taheri, RA. (2022). Development and characterization of the carvone-loaded zein/pullulan hybrid electrospun nanofibers for food and medical applications. *Industrial Crops & Products*, 183, 114964. doi:10.1016/j.indcrop.2022.114964
- Anderson, JW., Baird, P., Davis Jr, RH., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V. & Williams, CL. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188-205. doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x
- Anonim (2002). Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer). T.C. Başbakanlık D.İ.E., Yayın No: 2614, Ankara.
- Anonim (2022). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2022/44). Tarım ve Orman Bakanlığı, Resmi Gazete (Sayı: 32029), Ankara.

- Anu Bhushani, J. & Anandharamakrishnan, C. (2014). Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications. *Trends in Food Science & Technology*, 38(1), 21–33. doi:10.1016/j.tifs.2014.03.004
- Arpagaus, C., Collenberg, A., Rütli, D., Assadpour, E. & Jafari, SM. (2018). Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 546(1-2), 194–214. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.05.037
- Asgari, S., Pourjavadi, A., Setayeshmehr, M., Boisen, A. & Ajalloueiian, F. (2021). Encapsulation of Drug-Loaded Graphene Oxide-Based Nanocarrier into Electrospun Pullulan Nanofibers for Potential Local Chemotherapy of Breast Cancer. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 222 (15), 2100096. doi:10.1002/macp.202100096
- Assadpour, E. & Jafari, SM. (2019). Advances in Spray-Drying Encapsulation of Food Bioactive Ingredients: From Microcapsules to Nanocapsules. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1). doi:10.1146/annurev-food-032818-121641
- Atraki, R. & Azizkhani, M. (2021). Survival of probiotic bacteria nanoencapsulated within biopolymers in a simulated gastrointestinal model. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 72, 102750. doi:10.1016/j.ifset.2021.102750
- Babitha, S., Rachita, L., Karthikeyan, K., Shoba, E., Janani, I., Poornima, B. & Purna Sai, K. (2017). Electrospun protein nanofibers in healthcare: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 523(1), 52-90. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.03.013
- Bhardwaj, N. & Kundu, SC. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325-347. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.01.004
- Bakry, AM., Chen, YQ. & Liang, L. (2019). Developing a mint yogurt enriched with omega-3 oil: Physiochemical, microbiological, rheological, and sensorial characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43, e14287. doi:10.1111/jfpp.14287
- Bamidele, OP. & Emmambux, MN. (2020). Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(18), 3100-3118. doi:10.1080/10408398.2020.1793724
- Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, AF. & Arora, A. (2017). Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. *Food Chemistry*, 225, 10-22. doi:10.1016/j.foodchem.2016.12
- Bao, W., Zhou, J., Luo, J. & Wu, D. (2006). PLGA microspheres with high drug loading and high encapsulation efficiency prepared by a novel solvent evaporation technique. *Journal of Microencapsulation*, 23(5), 471-479. doi:10.1080/02652040600687613

- Beachley, V. & Wen, X. (2009). Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Materials Science and Engineering: C*, 29(3), 663-668. doi:10.1016/j.msec.2008.10.037
- Biliuta, G., Baron, RI. & Coseri, S. (2022). Pullulan oxidation in the presence of hydrogen peroxide and N-Hydroxyphthalimide. *Materials*, 15, 6086. doi:10.3390/ma15176086
- Bradley, R., Arnold, E., Barbano, D., Semerad, R., Smith, D. & Vines, B. (1992). Chemical and physical methods. In: Marshall RT (ed) Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, Washington, USA, pp. 433-531
- Brand-Williams, W., Cuvelier, ME. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:10.1016/s0023-6438(95)80008-5
- Brennan, CS. & Tudorica, CM. (2008). Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: comparative study of the utilisation of barley beta-glucan, guar gum and inulin. *International Journal of Food Science & Technology*, 43, 824-833.
- Brinques, GB. & Ayub, MAZ. (2011). Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 123-128. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.006
- Buljeta, I., Pichler, A., Šimunović, J. & Kopjar, M. (2022). Polysaccharides as carriers of polyphenols: Comparison of freeze-drying and spray-drying as encapsulation techniques. *Molecules*, 27, 5069. doi:10.3390/molecules27165069
- Cannon, J., Lee, T., Bolanos, J. & Danziger, L. (2005). Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: A retrospective review of over 200 cases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24, 31-40. doi: 10.1007/s10096-004-1253-y
- Cao, G., Bu, N., Zeng, T., Sun, R., Mu, R., Pang, J. & Wang, L. (2022). Development of pH-responsive konjac glucomannan/pullulan films incorporated with acai berry extract to monitor fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 219, 897-906. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.08.030
- Capuano, E. (2017). The behavior of dietary fiber in the gastrointestinal tract determines its physiological effect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3543-3564. doi:10.1080/10408398.2016.1180501
- Carine Raddatz, G., Poletto, G., de Deus, C., Franco Codevilla, C., José Cichoski, A., Jacob-Lopes, E., Irineu Muller, E., Moraes Flores, EM., Almeida Esmerino, E. & Ragagnin de Menezes, C. (2020). Use of prebiotic sources to increase probiotic viability in pectin microparticles obtained by emulsification/internal gelation followed by freeze-drying. *Food Research International*, 130, 108902. doi:10.1016/j.foodres.2019.108902

- Casper, CL., Stephens, JS., Tassi, NG., Chase, DB. & Rabolt, JF. (2004). Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules*, 37(2), 573-578. doi:10.1021/ma0351975
- Castellano Filho DS., Diniz, CG. & Silva, VL. (2010). Bacterial vaginosis: Clinical, epidemiologic and microbiological features. *HU Revista*, 36, 223-230.
- Celebioglu, A. & Uyar, T. (2021). Electrohydrodynamic encapsulation of eugenol-cyclodextrin complexes in pullulan nanofibers. *Food Hydrocolloids*, 111, 106264. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106264
- Ceylan, Z., Meral, R., Karakaş, CY., Dertli, E. & Yilmaz, MT. (2018). A novel strategy for probiotic bacteria: Ensuring microbial stability of fish fillets using characterized probiotic bacteria-loaded nanofibers. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 212-218. doi:10.1016/j.ifset.2018.07.002
- Cen, H., He, Y. & Huang, M. (2006). Measurement of Soluble Solids Contents and pH in Orange Juice Using Chemometrics and Vis-NIRS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7437-7443. doi:10.1021/jf061689f
- Cerdá-Bernad, D., Valero-Cases, E., Pastor, JJ. & Frutos, MJ. (2023). Microencapsulated saffron floral waste extracts as functional ingredients for antioxidant fortification of yogurt: Stability during the storage. *LWT - Food Science and Technology*, 184, 114976. doi:10.1016/j.lwt.2023.114976
- Chen, J., Huang, H., Chen, Y., Xie, J., Song, Y., Chang, X., Liu, S., Wang, Z., Hu, X. & Yu, Q. (2020). Effects of fermentation on the structural characteristics and in vitro binding capacity of soluble dietary fiber from tea residues. *LWT - Food Science and Technology*, 131, 109818. doi:10.1016/j.lwt.2020.109818
- Choi, IS., Lee, YG., Khanal, SK., Park, BJ. & Bae, HJ. (2015). A low-energy, cost-effective approach to fruit and citrus peel waste processing for bioethanol production. *Applied Energy*, 140, 65-74. doi:10.1016/j.apenergy.2014.11.
- Codex, A. (2011). Milk and milk products (2nd ed., pp. 7e8). Rome: WHO, FAO. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/015/i2085e/i2085e00.pdf>
- Coiffier, A., Coradin, T., Roux, C., Bouvet, OMM. & Livage, J. (2001). Sol-gel encapsulation of bacteria: a comparison between alkoxide and aqueous routes. *Journal of Materials Chemistry*, 11(8), 2039-2044. doi:10.1039/b101308o
- Croisier, F., Sibret, P., Dupont-Gillain, CC., Genet, MJ., Detrembleur, C. & Jérôme, C. (2015). Chitosan-coated electrospun nanofibers with antibacterial activity. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(17), 3508-3517. doi:10.1039/c5tb00158g
- Cruz, AG., Castro, WF., Faria, JAF., Bolini, HMA., Celeghini, RMS., Raices, RSL., Oliveira, CAF., Freitas, MQ., Conte Júnior, CA. & Mársico, ET. (2013a). Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated

- storage. *Food Research International*, 51(2), 723-728. doi:10.1016/j.foodres.2013.01.028
- Cruz, AG., Cavalcanti, RN., Guerreiro, LMR., Sant'Ana, AS., Nogueira, LC., Oliveira, CAF., Deliza, R., Cunha, RL., Faria, JAF. & Bolini, HMA. (2013b). Developing a prebiotic yogurt: Rheological, physico-chemical and microbiological aspects and adequacy of survival analysis methodology. *Journal of Food Engineering*, 114(3), 323-330. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.08.018
- Cui, S. W., Wu, Y. & Ding, HH. (2013). The range of dietary fibre ingredients and a comparison of their technical functionality. In JA. Delcour & K. Poutanen (Eds.), *Fibre-rich and wholegrain Foods: Improving quality* (pp. 96-115). FL: Woodhead Publishing, Sawston, England.
- Çabuk, B. & Telliöglu Harsa, Ş. (2015). Protection of *Lactobacillus acidophilus* NRRL-B 4495 under in vitro gastrointestinal conditions with whey protein/pullulan microcapsules. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(6), 650-656. doi:10.1016/j.jbiosc.2015.04.014
- Çimen, B., Yeşiloğlu, T., İncesu, M. & Yılmaz, B. (2013). Nüseller kökenli bazı kan portakalı çeşitlerinin Adana ekolojik koşullarında meyve kalite özelliklerinin saptanması. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 6(1), 15-20.
- Dafe, A., Etemadi, H., Dilmaghani, A. & Mahdavinia, GR. (2017). Investigation of pectin/starch hydrogel as a carrier for oral delivery of probiotic bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 536-543. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.
- Daneshniya, M., Nezhad, HJ., Maleki, MH., Jalali, V. & Behrouzian, MA. (2020). Review of Encapsulation of Bioactive Peptides with Antimicrobial and Antioxidant Activity. *International journal of academic engineering research*, 4(7).
- Daou, C. & Zhang, H. (2011). Physico-chemical properties and antioxidant activities of dietary fiber derived from defatted rice bran. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(5), 339-347.
- De Campo, C., Queiroz Assis, R., Marques da Silva, M., Haas Costa, TM., Paese, K., Staniscuaski Guterres, S., de Oliveira Rios, A. & Hickmann Flores, S. (2019). Incorporation of zeaxanthin nanoparticles in yogurt: Influence on physicochemical properties, carotenoid stability and sensory analysis. *Food Chemistry*, 301, 125230. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125230
- De Champs, C., Maroncle, N., Balestrino, D., Rich, C. & Forestier, C. (2003). Persistence of colonization of intestinal mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* Lcr35, after oral consumption. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(3), 1270-1273. doi:10.1128/jcm.41.3.1270-1273.2003
- De Gregorio, PR., Michavila, G., Muller, LR., De Souza Borges, C., Pomares, MF., De Sá, ELS., Pereira, C. & Vincent, PA. (2017). Beneficial rhizobacteria immobilized in nanofibers for potential application as soybean seed

bioinoculants. *PLoS One*, 12(5), e0176930. doi:10.1371/journal.pone.0176930.

- De Moraes Crizel, T., Jablonski, A., de Oliveira Rios, A., Rech, R. & Flôres, SH. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 9-14. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.002
- Deng, L. & Zhang, H. (2020). Recent advances in probiotics encapsulation by electrospinning. *ES Food Agroforestry*, 2, 3-12. doi:10.30919/esfaf1120
- De Oliveira, AM., da Silva, MLCP., Alves, GM., de Oliveira, PC. & dos Santos, AM. (2005). Encapsulation of TiO₂ by emulsion polymerization with methyl metacrylate (MMA). *Polymer Bulletin*, 55(6), 477-484. doi:10.1007/s00289-005-0457-3
- Devaraju, R., Pushpadass, HA., Emerald, FME., Padaki, NV. & Nath, BS. (2021). Nanoencapsulation of casein-derived peptides within electrospun nanofibres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi:10.1002/jsfa.11509
- De Vos, P., Faas, M., Spasojevic, M. & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20, 292-302. doi:10.1016/j.idairyj.2009.11.008
- De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P. & De Clerck, K. (2009). The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of Materials Science*, 44(5), 1357-1362. doi:10.1007/s10853-008-3010-6
- Diep, E. & Schiffman, JD. (2021). Encapsulating bacteria in alginate-based electrospun nanofibers. *Biomaterials Science*, 9(12), 4364-4373. doi:10.1039/d0bm02205e
- Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B. & Nedović, V. (2015). Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452-490. doi:10.1007/s12393-014-9106-7
- Doleyres, Y. & Lacroix, C. (2005). Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. *International Dairy Journal*, 15(10), 973-988. doi:10.1016/j.idairyj.2004.11.014
- Duan, M., Yu, S., Sun, J., Jiang, H., Zhao, J., Tong, C., Hu, Y., Pang, J. & Wu, C. (2021). Development and characterization of electrospun nanofibers based on pullulan/chitin nanofibers containing curcumin and anthocyanins for active-intelligent food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 187, 332-340. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.07.140
- Duman, D. & Karadag, A. (2021). Inulin added electrospun composite nanofibres by electrospinning for the encapsulation of probiotics: characterisation and assessment of viability during storage and simulated gastrointestinal

- digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(2), 927-935. doi:10.1111/ijfs.14744
- Eatemadi, A., Daraee, H., Zarghami, N., Melat Yar, H. & Akbarzadeh, A. (2014). Nanofiber: Synthesis and biomedical applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(1), 111-121. doi:10.3109/21691401.2014.922568
- Eckert, C., Agnol, W. D., Dallé, D., Serpa, VG., Maciel, MJ., Lehn, DN. & Volken de Souza, CF. (2018). Development of alginate-pectin microparticles with dairy whey using vibration technology: Effects of matrix composition on the protection of *Lactobacillus* spp. from adverse conditions. *Food Research International*, 113, 65-73. doi:10.1016/j.foodres.2018.07.001
- El Kadri, H., Lalou, S., Mantzouridou, F. & Gkatzionis, K. (2018). Utilisation of water-in-oil-water (W 1 /O/W 2) double emulsion in a set-type yogurt model for the delivery of probiotic *Lactobacillus paracasei*. *Food Research International*, 107, 325-336. doi:10.1016/j.foodres.2018.02.049
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C. & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411-421. doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.077
- El-Sayed, HS., El-Sayed, SM. & Youssef, AM. (2022a). Designated functional microcapsules loaded with green synthesis selenium nanorods and probiotics for enhancing stirred yogurt. *Scientific Reports*, 12, 14751. doi:10.1038/s41598-022-18781-w
- El-Sayed, HS., Youssef, K. & Hashim, AF. (2022b) Stirred yogurt as a delivery matrix for freeze-dried microcapsules of synbiotic EVOO nanoemulsion and nanocomposite. *Frontiers in Microbiology*, 13, 893053. doi:10.3389/fmicb.2022.893053
- Erkaya-Kotan, T. (2020). In vitro angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory and antioxidant activity of probiotic yogurt incorporated with orange fibre during storage. *Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1007/s13197-020-04272-1
- Ertem, H. & Çakmakçı, S. (2018). Shelf life and quality of probiotic yogurt produced with *Lactobacillus acidophilus* and *Gobdin*. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(3), 776-783. doi:10.1111/ijfs.13653
- Esposito, F., Arlotti, G., Maria Bonifati, A., Napolitano, A., Vitale, D. & Fogliano, V. (2005). Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Research International*, 38(10), 1167-1173. doi:10.1016/j.foodres.2005.05.002
- Ezhilarasi, PN., Karthik, P., Chhanwal, N. & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647. doi:10.1007/s11947-012-0944-0

- Fahami, A. & Fathi, M. (2018). Fabrication and characterization of novel nanofibers from cress seed mucilage for food applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(6), 45811. doi:10.1002/app.45811
- Fan, X., Shi, Z., Xu, J., Li, C., Li, X., Jiang, X., Du, L., Tu, M., Zeng, X., Wu, Z. & Pan, D. (2023). Characterization of the effects of binary probiotics and wolfberry dietary fiber on the quality of yogurt. *Food Chemistry*, 406, 135020. doi:10.1016/j.foodchem.2022.135020
- Fareed, F., Saeed, F., Afzaal, M., Imran, A., Ahmad, A., Mahmood, K., Shah, YA., Hussain, M. & Ateeq, H. (2022). Fabrication of electrospun gum Arabic–polyvinyl alcohol blend nanofibers for improved viability of the probiotic. *J. Food Sci. Technol.* 59, 4812-4821. doi:10.1007/s13197-022-05567-1
- Faridi Esfanjani, A., Assadpour, E. & Jafari, SM. (2018). Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. *Trends in Food Science & Technology*, 76, 56-66. doi:10.1016/j.tifs.2018.04.002
- Fathi, M., Martín, Á. & McClements, DJ. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 39(1), 18-39. doi:10.1016/j.tifs.2014.06.007
- Fathi, M. (2015). Nano-Delivery system for development of functional food: production, application and trends. *Nutraceuticals and Functional Food*, 42, 270-288.
- Fathi, M., Nasrabadi, MN. & Varshosaz, J. (2017). Characteristics of vitamin E-loaded nanofibres from dextran. *International Journal of Food Properties*, 20(11), 2665-2674. doi:10.1080/10942912.2016.1247365
- Favier, CF., de Vos, WM. & Akkermans, AD. (2003). Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe*, 9(5), 219-229. doi:10.1016/j.anaerobe.2003.07.001
- Feng, C., Khulbe, KC., Matsuura, T., Tabe, S. & Ismail, AF. (2013). Preparation and characterization of electro-spun nanofiber membranes and their possible applications in water treatment. *Separation and Purification Technology*, 102, 118-135. doi:10.1016/j.seppur.2012.09.037
- Feng, K., Zhai, M., Zhang, Y., Linhardt, R. J., Zong, M., Li, L. & Wu, H. (2018). Improved viability and thermal stability of the probiotics encapsulated in a novel electrospun fiber mat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. doi:10.1021/acs.jafc.8b02644
- Feng, T., Su, Q., Zhuang, H., Ye, R., Gu, Z. & Jin, Z. (2014). Ghost structures, pasting, rheological and textural properties between mesona blumes gum and various starches. *Journal of Food Quality*, 37(2), 73-82. doi:10.1111/jfq.12076
- Feng, T. & Wang, J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut Microbes*, 12(1), e1801944. doi:10.1080/19490976.2020.1801944

- Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, AM., Khosravi-Darani, K. & Homayouni Rad, A. (2013). Evaluation of probiotic survivability in Yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 139-144.
- Fiorentin, LD., Trigueros, DEG., Módenes, AN., Espinoza-Quiñones, FR., Pereira, NC., Barros, STD. & Santos, OAA. (2010). Biosorption of reactive blue 5G dye onto drying orange bagasse in batch system: Kinetic and equilibrium modeling. *Chemical Engineering Journal*, 163(1-2), 68-77. doi:10.1016/j.cej.2010.07.043
- Frakolaki, G., Kekes, T., Lympaki, F., Giannou, V. & Tzia, C. (2021). Use of encapsulated *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* through extrusion or emulsification for the production of probiotic yogurt. *Journal of Food Process Engineering*. 45, e13792. doi:10.1111/jfpe.13792
- Fung, WY., Yuen, KH. & Liong, MT. (2011). Agrowaste-based nanofibers as a probiotic encapsulant: Fabrication and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15), 8140-8147. doi:10.1021/jf2009342
- Fung, WY., Yuen, K. & Liong, MT. (2010). Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 8077-8084. doi:10.1021/jf1012506
- Fu, X., Chang, X., Ding, Z., Xu, H., Kong, H., Chen, F., Wang, R., Shan, Y. & Ding, S. (2022). Fabrication and characterization of eco-friendly polyelectrolyte bilayer films based on chitosan and different types of edible citrus pectin. *Foods*, 11, 3536. doi:10.3390/foods11213536
- Galisteo, M., Duarte, J., & Zarzuelo, A. (2008). Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(2), 71–84. doi:10.1016/j.jnutbio.2007.02.009
- Gasti, T., Dixit, S., Hiremani, VD., Chougale, RB., Masti, SP., Vootla, SK. & Mudigoudra, BS. (2022). Chitosan/pullulan based films incorporated with clove essential oil loaded chitosan-ZnO hybrid nanoparticles for active food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 277, 118866. doi:10.1016/j.carbpol.2021.118866
- Gebara, C., Chaves, KS., Ribeiro, MCE., Souza, FN., Grosso, CRF. & Gigante, ML. (2013). Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin–whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 51(2), 872-878. doi:10.1016/j.foodres.2013.02.008
- Geng, X., Kwon, O. & Jang, J. (2005). Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26(27), 5427-5432. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.01.066
- Ghalehjoogh, H. D., Tajik, H. & Shahbazi, Y. (2023). Development and characterization of active packaging nanofiber mats based on gelatin-sodium alginate containing probiotic microorganisms to improve the shelf-life and safety quality of silver carp fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 384, 109984. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109984

- Gheonea, I., Aprodu, I., Cîrciumaru, A., Râpeanu, G., Bahrim, GE. & Stănciuc, N. (2021). Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. *Journal of Food Engineering*, 288, 110166. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110166
- Ghorbani, S. & Maryam A. (2021). Encapsulation of lactic acid bacteria and Bifidobacteria using starch-sodium alginate nanofibers to enhance viability in food model. *Journal of Food Processing Preservation*, 45, e16048. doi:10.1111/jfpp.16048
- Ghorbanzade, T., Akhavan-Mahdavi, S., Kharazmi, MS. Ibrahim, SA. & Jafari, S. M. (2022). Loading of fish oil into β -cyclodextrin nanocomplexes for the production of a functional yogurt. *Food Chemistry: X*, 15, 100406.
- Gniewosz, M., Pobiega, K., Kraśniewska, K., Synowiec, A., Chaberek, M. & Galus, S. (2022). Characterization and Antifungal Activity of Pullulan Edible Films Enriched with Propolis Extract for Active Packaging. *Foods*, 11, 2319. doi:10.3390/foods11152319
- Golding, JB., Satyan, S., Liebenberg, C., Walsh, K. & McGlasson, WB. (2006). Application of portable NIR for measuring soluble solids concentrations in peaches. *Acta Horticulturae*, (713), 461-464. doi:10.17660/actahortic.2006.713.69
- Gülbenzer, S. & Ökmen, G. (2012). Ozmotik koruyucular ve mikroorganizmalar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1), 41-52.
- Hamori, M., Yoshimatsu, S., Hukuchi, Y., Shimizu, Y., Fukushima, K., Sugioka, N., Nishimura, A. & Shibata, N. (2014). Preparation and pharmaceutical evaluation of nano-fiber matrix supported drug delivery system using the solvent-based electrospinning method. *International Journal of Pharmaceutics*, 464(1-2), 243-251. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.12.036
- Hang, YD., Luh, BS. & Woodams, EE. (1987). Microbial production of citric acid by solid state fermentation of kiwifruit peel. *Journal of Food Science*, 52(1), 226-227. doi:10.1111/j.1365-2621.1987.tb14014.x
- Harrigan, WF. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology* (3. baskı). Gulf Professional Publishing, New York, USA, 532 pp.
- Hasani, S., Sari, AA., Heshmati, A. & Karami, M. (2017). Physicochemical and sensory attributes assessment of functional low-fat yogurt produced by incorporation of barley bran and *Lactobacillus acidophilus*. *Food Science & Nutrition*, 5(4), 875-880. doi:10.1002/fsn3.470
- Hashim, AF., Abd-Rabou, AA. & El-Sayed, HS. (2022). Functional nanoemulsion and nanocomposite microparticles as an anticolorrectal cancer and antimicrobial agent: applied in yogurt. *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-022-03313-3
- Hekmati, AH., Rashidi, A., Ghazisaeidi, R. & Drean, JY. (2013). Effect of needle length, electrospinning distance, and solution concentration on morphological

- properties of polyamide-6 electrospun nanowebs. *Textile Research Journal*, 83(14), 1452-1466. doi:10.1177/0040517512471746
- Hematyar, N., Samarin, AM., Poorazarang, H. & Elhamirad, AH. (2012). Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 661-665. doi:10.5829/idosi.wasj.2012.20.05.2353
- Hirsch, E., Pantea, E., Vass, P., Domján, J., Molnár, M., Suhajda, Á., Andersen, SK., Vigh, T., Verreck, G., Marosi, GJ. & Nagy, ZK. (2021). Probiotic bacteria stabilized in orally dissolving nanofibers prepared by high-speed electrospinning. *Food and Bioproducts Processing*, 128, 84-94. doi:10.1016/j.fbp.2021.04.016
- Huang, Z., Ye, R., Chen, J. & Xu, F. (2013). An improved method for rapid quantitative analysis of the insoluble dietary fiber in common cereals and some sorts of beans. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 270-274. doi:10.1016/j.jcs.2012.11.009
- Hu, X., Liu, C., Zhang, H., Hossen, MA., Sameen, DE., Dai, J., Qin, V., Liu, Y. & Li, S. (2021). In vitro digestion of sodium alginate/pectin co-encapsulated *Lactobacillus bulgaricus* and its application in yogurt bilayer beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1050-1058. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.11.076
- IDF. (1988). Denombrement del microorganismes caracteristiques. FIL-IDF Standard 117A, International Dairy Federation, Brüksel.
- Ishibashi, N. & Shimamura, S. (1993). Bzjidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technology*, 47, 126-136.
- Ismail, SA., Hassan, AA., Nour, SA. & El-Sayed, HS. (2023). The production of stirred yogurt fortified with prebiotic xylooligosaccharide, probiotic and synbiotic microcapsules. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102729. doi:10.1016/j.bcab.2023.102729
- Izydorczyk, MS., Chornick, TL., Paulley, FG., Edwards, NM. & Dexter, JE. (2008). Physicochemical properties of hull-less barley fibre-rich fractions varying in particle size and their potential as functional ingredients in two-layer flat bread. *Food Chemistry*, 108(2), 561-570. doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.012
- İnanç Horuz, T. & Belibağlı, KB. (2019). Encapsulation of tomato peel extract into nanofibers and its application in model food. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43, e14090. doi:10.1111/jfpp.14090
- Jacobsen, C., García-Moreno, PJ., Mendes, AC., Mateiu, RV. & Chronakis, IS. (2018). Use of Electrohydrodynamic processing for encapsulation of sensitive bioactive compounds and applications in food. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9(1), 525-549. doi:10.1146/annurev-food-030117-012348
- Jia, X. wen, Qin, Z. yu, Xu, J. xin, Kong, B. hua, Liu, Q. & Wang, H. (2020). Preparation and characterization of pea protein isolate-pullulan blend

- electrospun nanofiber films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157:641-647. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.216
- Jiménez-Escrig, A. & Sánchez-Muniz, FJ. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20(4), 585-598. doi:10.1016/s0271-5317(00)00149-4
- Jouki, M., Khazaei, N., Rashidi-Alavijeh, S. & Ahmadi, S. (2021). Encapsulation of *Lactobacillus casei* in quince seed gum-alginate beads to produce a functional synbiotic drink powder by agro-industrial by-products and freeze-drying. *Food Hydrocolloids*, 120, 106895. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.106895
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), 1221-1227. doi:10.1016/j.lwt.2005.07.013
- Karaca, OB., Saydam, İB. & Güven, M. (2019). Physical, chemical, and sensory attributes of low-fat, full-fat, and fat-free probiotic set yogurts fortified with fiber-rich persimmon and apple powders. *Journal of Food Processing and Preservation*, e13926. doi:10.1111/jfpp.13926
- Karaman, S. & Ozcan, T. (2021). Determination of gelation properties and bio-therapeutic potential of black carrot fibre-enriched functional yoghurt produced using pectin and gum arabic as prebiotic. *International Journal of Dairy Technology*, 74(3), 505-517. doi:10.1111/1471-0307.12776
- Karam, L., Chehab, R., Osaili, TM. & Savvaidis, IN. (2020). Antimicrobial effect of thymol and carvacrol added to a vinegar-based marinade for controlling spoilage of marinated beef (Shawarma) stored in air or vacuum packaging. *International Journal of Food Microbiology*, 332, 108769. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108769
- Karim, MR., Lee, HW., Kim, R., Ji, BC., Cho, JW., Son, TW., Oh, W. & Yeum, JH. (2009). Preparation and characterization of electrospun pullulan/montmorillonite nanofiber mats in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 78(2), 336-342. doi:10.1016/j.carbpol.2009.04.024
- Kemsawasd, V., Chaikham, P. & Rattanasena, P. (2016). Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Bioscience*, 16, 37-43. doi:10.1016/j.fbio.2016.09.001
- Kenry. & Lim, CT. (2017). Nanofiber technology: current status and emerging developments. *Progress in Polymer Science*, 70, 1-17. doi:10.1016/j.progpolymsci.2017.03.002
- Khenoussi, N., Schacher, L. & Adolphe, DC. (2011). Nanofiber production: Study and development of electrospinning device. *Experimental Techniques*, 36(2), 32-39. doi:10.1111/j.1747-1567.2011.00704.x
- Khodaei, D., Hamidi-Esfahani, Z. & Lacroix, M. (2020). Gelatin and low methoxyl pectin films containing probiotics: Film characterization and cell viability. *Food Bioscience*, 100660. doi:10.1016/j.fbio.2020.100660

- Khorasani, AC. & Shojaosadati, SA. (2017). Improvement of probiotic survival in fruit juice and under gastrointestinal conditions using pectin-nanochitin-nanolignocellulose as a novel prebiotic gastrointestinal resistant matrix. *Applied Food Biotechnology*, 4(3), 179-191. doi:10.22037/afb.v4i3.17337
- Khorshidi, M., Heshmati, A., Taheri, M., Karami, M. & Mahjub, R. (2021). Effect of whey protein- and xanthan-based coating on the viability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and physicochemical, textural, and sensorial properties of yogurt. *Food Science & Nutrition*, 9(7), 3942-3953. doi:10.1002/fsn3.2398
- Khubber, S., Chaturvedi, K., Thakur, N., Sharma, N. & Yadav, SK. (2021). Low-methoxyl pectin stabilizes low-fat set yoghurt and improves their physicochemical properties, rheology, microstructure and sensory liking. *Food Hydrocoll*, 111, 106240. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106240
- Ki, CS., Baek, DH., Gang, KD., Lee, KH., Um, IC. & Park, YH. (2005). Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer*, 46(14), 5094-5102. doi:10.1016/j.polymer.2005.04.040
- Kim, G. T., Lee, JS., Shin, JH., Ahn, YC., Hwang, YJ., Shin, HS., Lee, JK. & Sung, CM. (2005). Investigation of pore formation for polystyrene electrospun fiber: Effect of relative humidity. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 22(5), 783-788. doi:10.1007/bf02705799
- Klettenhammer, S., Ferrentino, G., Morozova, K. & Scampicchio, M. (2020). Novel technologies based on supercritical fluids for the encapsulation of food grade bioactive compounds. *Foods*, 9(10), 1395. doi:10.3390/foods9101395
- Knorr, D. (1998). Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 9(8-9), 295-306. doi:10.1016/s0924-2244(98)00051-x
- Kohsari, I., Shariatnia, Z. & Pourmortazavi, SM. (2016). Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing bioactive silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 140, 287-298. doi:10.1016/j.carbpol.2015.12.075
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. & Deeth, HC. (2006). Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 39(2), 177-183. doi:10.1016/j.lwt.2004.12.006
- Krasaekoopt, W. & Watcharapoka, S. (2014). Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 761-766. doi:10.1016/j.lwt.2014.01.037
- Krunić, TŽ. & Rakin, MB. (2022). Enriching alginate matrix used for probiotic encapsulation with whey protein concentrate or its trypsin-derived hydrolysate: Impact on antioxidant capacity and stability of fermented whey-

- based beverages. *Food Chemistry*, 370, 130931. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130931
- Laelorspoen, N., Wongsasulak, S., Yoovidhya, T. & Devahastin, S. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in zein–alginate core–shell microcapsules via electrospraying. *Journal of Functional Foods*, 7, 342-349. doi:10.1016/j.jff.2014.01.026
- Larrauri, J. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), 3-8. doi:10.1016/s0924-2244(99)00016-3
- Lattimer, JM. & Haub, MD. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2(12), 1266-1289. doi:10.3390/nu2121266
- Lee, GH., Song, JC. & Yoon, KB. (2010). Controlled wall thickness and porosity of polymeric hollow nanofibers by coaxial electrospinning. *Macromolecular Research*, 18(6), 571-576. doi:10.1007/s13233-010-0607-9
- Lévai, G., Martín, Á., Moro, A., Matias, AA., Gonçalves, VSS., Bronze, MR., Duarte, CMM., Rodriguez-Rojo, S. & Cocero, MJ. (2017). Production of encapsulated quercetin particles using supercritical fluid technologies. *Powder Technology*, 317, 142-153. doi:10.1016/j.powtec.2017.04.041
- Liang, J., Xia, Q., Wang, S., Li, J., Huang, Q. & Ludescher, RD. (2015). Influence of glycerol on the molecular mobility, oxygen permeability and microstructure of amorphous zein films. *Food Hydrocolloids*, 44, 94-100. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.09.002
- Liang, Q. & Gao, Q. (2023). Effect of amylose content on the preparation for carboxymethyl starch/pullulan electrospun nanofibers and their properties as encapsulants of thymol. *Food Hydrocolloids*, 136, 108250. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108250
- Li, D., Dai, F., Li, H., Wang, C., Shi, X., Cheng, Y. & Deng, H. (2021a). Chitosan and collagen layer-by-layer assembly modified oriented nanofibers and their biological properties. *Carbohydrate Polymers*, 254, 117438. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117438
- Li, H., Liu, T., Yang, J., Wang, R., Li, Y., Feng, Y., Liu, D., Li, H. & Yu, J. (2021b). Effect of a microencapsulated synbiotic product on microbiology, microstructure, textural and rheological properties of stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 152, 112302. doi:10.1016/j.lwt.2021.112302
- Li, H., Zhang, T., Li, C., Zheng, S., Li, H. & Yu, J. (2020). Development of a microencapsulated synbiotic product and its application in yoghurt. *LWT - Food Science and Technology*, 122, 109033. doi:10.1016/j.lwt.2020.109033
- Li, J., Chotiko, A., Narcisse, DA. & Sathivel, S. (2016). Evaluation of alpha-tocopherol stability in soluble dietary fiber based nanofiber. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 485-490. doi:10.1016/j.lwt.2015.12.042
- Liu, SC., Li, R., Tomasula, PM., Sousa, AMM. & Liu, L. (2016). Electrospun food grade ultrafine fibers from pectin and pullulan blends. *Food and Nutrition Sciences*, 7, 636-646. doi:10.4236/fns.2016.77065

- Lopez-Polo, J., Silva-Weiss, A., Zamorano, M. & Osorio, FA. (2019). Humectability and physical properties of hydroxypropyl methylcellulose coatings with liposome-cellulose nanofibers: Food application. *Carbohydrate Polymers*, 231, 115702. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115702
- López-Rubio, A., Sanchez, E., Sanz, Y. & Lagaron, J.M. (2009). Encapsulation of living Bifidobacteria in ultrathin PVOH electrospun fibers. *Biomacromolecules*, 10(10), 2823-2829. doi:10.1021/bm900660b
- López-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y. & Lagaron, JM. (2012). Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 159-167. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.12.008
- Lourens-Hattingh, A. & Viljoen, BC. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11(1-2), 1-17. doi:10.1016/s0958-6946(01)00036-x
- Lye, HS., Kuan, CY., Ewe, JA., Fung, WY. & Liong, MT. (2009). The improvement of hypertension by probiotics: Effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(9), 3755-3775. doi:10.3390/ijms10093755
- Macagnan, FT., dos Santos, LR., Roberto, BS., de Moura, FA., Bizzani, M. & da Silva, LP. (2015). Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(1), 1-6. doi:10.1016/j.bcdf.2015.04.001
- MacPhee, RA., Hummelen, R., Bisanz, JE., Miller, WL. & Reid, G. (2010). Probiotic strategies for the treatment and prevention of bacterial vaginosis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11, 2985-2995. doi:10.1517/14656566.2010.512004
- Madhu, AN., Amrutha, N. & Prapulla, SG. (2012). Characterization and Antioxidant Property of Probiotic and Synbiotic Yogurts. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4(2), 90-97. doi:10.1007/s12602-012-9099-6
- Madigan, MT. (2006). Prokaryotic diversity: The bacteria. In Brock biology of microorganisms, Ed.: Madigan MT., Martinko JM., Stahl D., Clark DP., Prentice Hall, Upper Saddle River, USA, 329-418.
- Ma, J., Li, T., Wang, Q., Xu, C., Yu, W., Yu, H., Wang, W., Feng, Z., Chen, L., Hou, J. & Jiang, Z. (2023). Enhanced viability of probiotics encapsulated within synthetic/natural biopolymers by the addition of gum arabic via electrohydrodynamic processing. *Food Chemistry*, 413, 135680. doi:10.1016/j.foodchem.2023.135680
- Ma, J., Xu, C., Yu, H., Feng, Z., Yu, W., Gu, L., Liu, Z., Chen, L., Jiang, Z. & Hou, J. (2021). Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology. *Food Hydrocolloids*, 111, 106381. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106381
- Mailley, D., Hébraud, A. & Schlatter, G. (2021). A Review on the impact of humidity during electrospinning: From the nanofiber structure engineering to

- the applications. *Macromolecular Materials and Engineering*, 306(7), 2100115. doi:10.1002/mame.202100115
- Manhongo, TT., Chimphango, AFA., Thornley, P. & Röder, M. (2022). Current status and opportunities for fruit processing waste biorefineries. *Renew Sustain Energy Rev.*, 155, 111823. doi:10.1016/j.rser.2021.111823
- Martin-Cabrejas, MA., Esteban, RM., Lopez-Andreu, FJ., Waldron, K. & Selvendran, RR. (1995). Dietary fiber content of pear and kiwi pomaces. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, 662-666.
- Marzougui, K., Hamzaoui, AH., Farah, K. & Ben Nessib, N. (2008). Electrical conductivity study of gamma-irradiated table sugar for high-dose dosimetry. *Radiation Measurements*, 43(7), 1254-1257. doi:10.1016/j.radmeas.2008.05.009
- Mastromarino, P., Macchia, S., Meggiorini, L., Trinchieri, V., Mosca, L., Perluigi, M. & Midulla, C. (2009). Effectiveness of *Lactobacillus*-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 67-74 (2009). doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02112.x
- Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C. & Rupérez, P. (2010). High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(3), 445-450. doi:10.1016/j.ifset.2010.02.003
- McCune, D., Guo, X., Shi, T., Stealey, S., Antrobus, R., Kaltchev, M., Chen, J., Kumpaty, S., Hua, X., Ren, W. & Zhang, W. (2018). Electrospinning pectin-based nanofibers: a parametric and cross-linker study. *Applied Nanoscience*, 8(1-2), 33-40. doi:10.1007/s13204-018-0649-4
- Meiners, JA. (2009). Micro-encapsulation of probiotics: In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, Ed.: Charalampopoulos, D., Rastall, R.A., Springer Science+Business Media, Heidelberg, Germany, pp 805-823.
- Michael, M., Phebus, RK. & Schmidt, KA. (2010). Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt. *International Dairy Journal*, 20(10), 665-672. doi:10.1016/j.idairyj.2010.03.005
- Min, T., Sun, X., Zhou, L., Du, H., Zhu, Z. & Wen, Y. (2021). Electrospun pullulan/PVA nanofibers integrated with thymol-loaded porphyrin metal-organic framework for antibacterial food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 270, 118391. doi:10.1016/j.carbpol.2021.118391
- Mishra, B., Mohanta YK., Varjani, S., Mandal SK., Lakshmayya, NSV., Chaturvedi, P., Awasthi, MK., Zhang, Z., Sindhu, R., Binod, P., Singhania, RR. & Kumar, V. (2022). A critical review on valorization of food processing wastes and by-products for pullulan production. *Journal of Food Science Technology*. doi:10.1007/s13197-022-05490-5

- Mishra, B. & Varjani, S. (2019). Evaluation of pullulan production by a newly isolated *Micrococcus luteus*. *Indian Journal Experimental Biology*, 57, 813-820.
- Mohaisen, MJM., Yildirim, RM., Yilmaz, MT. & Durak, MZ. (2019). Production of functional yogurt drink, apple and orange juice using nano-encapsulated *L. brevis* within sodium alginate-based biopolymers. *Science of Advanced Materials*, 11(12), 1788-1797. doi:10.1166/sam.2019.3708
- Moheman, A., Alam, MS. & Mohammad, A. (2016). Recent trends in electrospinning of polymer nanofibers and their applications in ultra thin layer chromatography. *Advances in Colloid and Interface Science*, 229, 1-24. doi:10.1016/j.cis.2015.12.003
- Moreira, TC., Transfeld da Silva, Á., Fagundes, C., Ferreira, SMR., Cândido, LMB., Passos, M. & Krüger, CCH. (2017). Elaboration of yogurt with reduced level of lactose added of carob (*Ceratonia siliqua L.*). *LWT - Food Science and Technology*, 76, 326-329. doi:10.1016/j.lwt.2016.08.033
- Mortazavian, AM., Ehsani, MR., Mousavi, SM., Rezaei, K., Sohrabvandi, S. & Reinheimer, JA. (2007). Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 60(2), 123-127. doi:10.1111/j.1471-0307.2007.00306.x
- Motohashi, N., Shirataki, Y., Kawase, M., Tani, S., Sakagami, H., Satoh, K., Kurihara, T., Nakashima, H., Wolfard, K., Miskolci, C. & Molnár, J. (2001). Biological activity of kiwifruit peel extracts. *Phytotherapy Research*, 15, 337-343. doi: 10.1002/ptr.876
- Mudgil, D., Barak, S. & Khatkar, B. (2017). Texture profile analysis of yogurt as influenced by partially hydrolyzed guar gum and process variables. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 3810-3817. doi:10.1007/s13197-017-2779-1
- Muzammil, H. S., Rasco, B. & Sablani, S. (2017). Effect of inulin and glycerol supplementation on physicochemical properties of probiotic frozen yogurt. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1290314. doi:10.1080/16546628.2017.1290314
- Nagy, ZK., Wagner, I., Suhajda, A., Tobak, T., Harasztos, AH., Vigh, T., Sóti, PL., Pataki, H., Molnár, K. & Marosi, G. (2014). Nanofibrous solid dosage form of living bacteria prepared by electrospinning. *Express Polymer Letters*, 8(5), 352-361. doi:10.3144/expresspolymlett.2014.39
- Najafi, Z., Bildik, F., Şahin-Yeşilçubuk, N. & Altay, F. (2022). Enhancing oxidative stability of encapsulated echium oil by incorporation of saffron extract loaded nanoliposomes into electrospun pullulan-pea protein isolate-pectin. *Food Hydrocolloids*, 129, 107627. doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107627
- Najgebauer-Lejko, D., Żmudziński, D., Ptaszek, A. & Socha, R. (2014). Textural properties of yogurts with green tea and Pu-erh tea additive. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(4), 1149-1158. doi:10.1111/ijfs.12411

- Nami, B., Tofighi, M., Molaveisi, M., Mahmoodan, A. & Dehnad, D. (2023a). Gelatin-maltodextrin microcapsules as carriers of vitamin D3 improve textural properties of synbiotic yogurt and extend its probiotics survival. *Food Bioscience*, 53, 102524. doi:10.1016/j.fbio.2023.102524
- Nami, Y., Kiani, A., Komi, DEA., Jafari, M. & Haghshenas, B. (2023b). Impacts of alginate–basil seed mucilage–prebiotic microencapsulation on the survival rate of the potential probiotic *Leuconostoc mesenteroides* ABRIINW.N18 in yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 76(1), 138-148. doi: 10.1111/1471-0307.12909
- Namratha, S., Sreejit, V. & Preetha, R. (2020). Fabrication and evaluation of physico-chemical properties of probiotic edible film based on pectin-alginate-casein composite. *International Journal of Food Science & Technology*, 55, 1497-1505. doi:10.1111/ijfs.14550
- Neo, YP., Ray, S. & Perera, CO. (2018). Fabrication of Functional Electrospun Nanostructures for Food Applications. *Role of Materials Science in Food Bioengineering*, 4, 109-146. doi:10.1016/b978-0-12-811448-3.00004-8
- Nguyen-Ngoc, H. & Tran-Minh, C. (2007). Sol–gel process for vegetal cell encapsulation. *Materials Science and Engineering: C*, 27(4), 607-611. doi:10.1016/j.msec.2006.04.010
- Okutan, N., Terzi, P. & Altay, F. (2014). Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocolloids*, 39, 19-26. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.12.022
- Onoe, H., Inamori, K., Takinoue, M. & Takeuchi, S. (2014). Centrifuge-based cell encapsulation in hydrogel microbeads using sub-microliter sample solution. *RSC Advances*, 4(58), 30480. doi:10.1039/c4ra02773f
- Öztürk, Hİ., Aydın, S., Sözeri, D., Demirci, T., Sert, D. & Akın, N. (2018). Fortification of set-type yoghurts with *Elaeagnus angustifolia* L. flours: Effects on physicochemical, textural, and microstructural characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 620-626. doi:10.1016/j.lwt.2018.01.012
- Parthasarathi, S. & Anandharamakrishnan, C. (2016). Enhancement of oral bioavailability of vitamin E by spray-freeze drying of whey protein microcapsules. *Food and Bioprocess Processing*, 100, 469-476. doi:10.1016/j.fbp.2016.09.004
- Pelipenko, J., Kristl, J., Janković, B., Baumgartner, S. & Kocbek, P. (2013). The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*, 456(1), 125-134. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.07.078
- Picot, A. & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Dairy Journal*, 14(6), 505-515. doi:10.1016/j.idairyj.2003.10.008

- Pinto, SS., Cavalcante, BD., Verruck, S., Alves, LF., Prudêncio, ES. & Amboni, R. D. (2017). Effect of the incorporation of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated with sweet whey and inulin on the properties of Greek-style yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2804-2813. doi:10.1007/s13197-017-2717-2
- Pinto, SS., Fritzen-Freire, CB., Dias, CO. & Amboni, RDMC. (2019). A potential technological application of probiotic microcapsules in lactose-free Greek-style yoghurt. *International Dairy Journal*, 97, 131-138. doi:10.1016/j.idairyj.2019.05.009
- Pop, OL., Diaconeasa, Z., Thorsten, B., Ciuzan, O., Pamfil, D., Vodnar, DC. & Socaciu, C. (2015). Effect of glycerol, as cryoprotectant in the encapsulation and freeze drying of microspheres containing probiotic cells. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 72(1), 27-32. doi:10.15835/buasvmcnfst:10993
- Pour, HM., Marhamatizadeh, MH. & Fattahi, H. (2022). Encapsulation of different types of probiotic bacteria within conventional/multilayer emulsion and its effect on the properties of probiotic Yogurt. *Journal of Food Quality*, 7923899. doi:10.1155/2022/7923899
- Priyadarshi, R., Kim, SM. & Rhim, JW. (2021). Pectin/pullulan blend films for food packaging: effect of blending ratio. *Food Chemistry*, 347, 129022. doi:10.1016/j.foodchem.2021.129022
- Prosky, L., Asp, NG., Schweizer, TF., Devries, JW. & Furda, I. (1988). Determination of Insoluble, Soluble, and Total Dietary Fiber in Foods and Food Products: Interlaboratory Study. *Journal of AOAC International*, 71(5), 1017-1023. doi:10.1093/jaoac/71.5.1017
- Qin, Z., Jia, XW., Liu, Q., Kong, B. & Wang, H. (2019). Fast dissolving oral films for drug delivery prepared from chitosan/pullulan electrospinning nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 224-231. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.06.224
- Ranadheera, CS., Evans, CA., Adams, MC. & Baines, SK. (2012). In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. *Food Research International*, 49(2), 619-625. doi:10.1016/j.foodres.2012.09.007
- Radocaj, OF., Dimic, EB. & Vujasinovic, VB. (2011). Optimization of the texture of fat-based spread containing hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo L.*) seed press-cake. *Acta Periodica Technologica*, 42, 131-143. doi:10.2298/APT1142131R
- Ranadheera, CS., Evans, CA., Adams, MC. & Baines, SK. (2014). Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *Journal of Functional Foods*, 8, 18-25. doi:10.1016/j.jff.2014.02.022
- Rathnayake, UA., Senapathi, T., Sandaruwan, C., Gunawardene, S., Karunaratne, V. & Kottegoda, N. (2018). Rice bran nanofiber composites for stabilization of phytase. *Chemistry Central Journal*, 12(28). doi:10.1186/s13065-018-0400-y

- 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. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z. & Askari, G. (2019). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 38(1-2), 1-24. doi:10.1080/07373937.2019.1653906
- Rezzadori, K., Benedetti, S. & Amante, ER. (2012). Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 606-614. doi:10.1016/j.fbp.2012.06.002
- Ribeiro, MCE., Chaves, KS., Gebara, C., Infante, FNS., Grosso, CRF. & Gigante, ML. (2014). Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. *Food Research International*, 66, 424-431. doi:10.1016/j.foodres.2014.10.019
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R. & Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17(1), 3-15. doi:10.1016/j.tifs.2005.10.002
- Rokka, S. & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231(1), 1-12. doi:10.1007/s00217-010-1246-2
- Rolfe, MD., Rice, CJ., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, AD., Alston, M., Stringer, MF., Betts, RP., Baranyi, J., Peck, MW. & Hinton, JCD. (2012). Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *Journal of Bacteriol*, 194(3), 686-701. doi:10.1128/jb.06112-11
- Rossi, E., Restuhadi, F., Efendi, R. & Dewi, YK. (2021) Physicochemical and microbiological properties of yogurt made with microencapsulation probiotic starter during cold storage. *Biodiversitas*, 22, 2012-2018. doi:10.13057/biodiv/d220450
- Sabater, C., Abad-García, C., Delgado-Fernández, P., Corzo, N. & Montilla, A. (2020). Carbohydrate fraction characterisation of functional yogurts containing pectin and pectic oligosaccharides through convolutional networks. *Journal of Food Composition and Analysis*, 90, 103484. doi:10.1016/j.jfca.2020.103484
- Sagar, NA., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, EM. & Lobo, MG. (2018). Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512-531. doi:10.1111/1541-4337.12330
- Sah, BNP., Vasiljevic, T., McKechnie, S. & Donkor, ON. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 978-986. doi:10.1016/j.lwt.2015.09.027

- Sahingil, D. & Hayaloglu, AA. (2022). Enrichment of antioxidant activity, phenolic compounds, volatile composition and sensory properties of yogurt with rosehip (*Rosa canina* L.) fortification. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, 100514. doi:10.1016/j.ijgfs.2022.100514
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., García-Galindo, HS., Alvarez-Ramírez, J. & Vernon-Carter, EJ. (2010). Textural properties of alginate–pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Food Research International*, 43(1), 111-117. doi:10.1016/j.foodres.2009.09.010
- Santos, E., Andrade, R. & Gouveia, E. (2017). Utilization of the pectin and pulp of the passion fruit from Caatinga as probiotic food carriers. *Food Bioscience*, 20, 56-61. doi:10.1016/j.fbio.2017.08.005
- Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sandholm, T. & de Vos, WM. (2005). Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 204-211. doi:10.1016/j.copbio.2005.02.003
- Sendra, E., Kuri, V., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Navarro, C. & Pérez-Alvarez, JA. (2010). Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 43(4), 708-714. doi:10.1016/j.lwt.2009.12.005
- Šeregelj, V., Pezo, L., Šovljanski, O., Lević, S., Nedović, V., Markov, S., Tomić, A., Čanadanović-Brunet, J., Vulića, J., Šaponjac, V. T. & Četković, G. (2021). New concept of fortified yogurt formulation with encapsulated carrot waste extract. *LWT - Food Science and Technology*, 138, 110732. doi:10.1016/j.lwt.2020.110732
- Shafiei, Y. (2018). Probiotic and Synbiotic Yogurt Production Using Free or Alginate/Resistant Starch Microencapsulated *Lactobacillus plantarum*. *Role of Materials Science in Food Bioengineering*, 9, 301-328. doi:10.1016/b978-0-12-811448-3.00009-7
- Shah, N., Shah, T. & Amin, A. (2011). Polysaccharides: a targeting strategy for colonic drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(6), 779-796. doi:10.1517/17425247.2011.574121
- Shishir, MRI., Xie, L., Sun, C., Zheng, X. & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends Food Science Technology*, 78, 34-60.
- Shori, AB., Aljohani, GS., Al-Zahrani, AJ., Al-Sulbi, OS. & Baba, AS. (2022). Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. *LWT - Food Science and Technology*, 153, 112482. doi:10.1016/j.lwt.2021.112482
- Shori, AB. & Baba, AS. (2012). Viability of lactic acid bacteria and sensory evaluation in *Cinnamomum verum* and *Allium sativum*-bio-yogurts made from camel and cow milk. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 11(1), 50-55. doi:10.1016/j.jaubas.2011.11.001

- Silva, JA., De Gregorio, PR., Rivero, G., Abraham, G. & Nader-Macías, MEF. (2021). Immobilization of vaginal *Lactobacillus* in polymeric nanofibers for its incorporation in vaginal probiotic products. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 156, 105563. doi:10.1016/j.ejps.2020.105563
- Simonič, M., Slapničar, Š., Trček, J., Matijašić, BB., Lorbeg, PM., Vesel, A., Zemljčič, LF. & Fratnik, ZP. (2023). Probiotic *Lactobacillus paragasseri* K7 nanofiber encapsulation using nozzle-free electrospinning. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. doi:10.1007/s12010-023-04416-x
- Singh, A., Walvekar, R., Mohammad Khalid, Wong, WY. & Gupta, TCSM. (2018). Thermophysical properties of glycerol and polyethylene glycol (PEG 600) based DES. *Journal of Molecular Liquids*, 252, 439-444. doi:10.1016/j.molliq.2017.10.030
- Singh, RS. & Kaur, N. (2019). Understanding response surface optimization of medium composition for pullulan production from de-oiled rice bran by *Aureobasidium pullulans*. *Food Sci Biotechnol*, 28, 1507-1520. doi:10.1007/s10068-019-00585-w
- Sirohi, R., Kumar Gaur, V., Kumar Pandey, A., Jun Sim, S. & Kumar, S. (2021). Harnessing fruit waste for poly-3-hydroxybutyrate production: A review. *Bioresource Technology*, 326, 124734. doi:10.1016/j.biortech.2021.124734
- Škrlec, K., Zupančič, Š., Prpar Mihevc, S., Kocbek, P., Kristl, J. & Berlec, A. (2019). Development of electrospun nanofibers that enable high loading and long-term viability of probiotics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. doi:10.1016/j.ejpb.2019.01.013
- Soh, SH. & Lee, LY. (2019). Microencapsulation and Nanoencapsulation Using Supercritical Fluid (SCF) Techniques. *Pharmaceutics*, 11(1), 21. doi:10.3390/pharmaceutics11010021
- Solangi, NH., Kumar, J., Mazari, SA., Ahmed, S., Fatima, N. & Mubarak, NM. (2021). Development of fruit waste derived bio-adsorbents for wastewater treatment: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 125848. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.125848
- Soliman, TN. & Nasser, SA. (2022) Characterization of carotenoids double-encapsulated and incorporate in functional stirred yogurt. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 979252. doi: 10.3389/fsufs.2022.979252
- Somvipart, S., Kanokpanont, S., Rangkupan, R., Ratanavaraporn, J. & Damrongsakkul, S. (2013). Development of electrospun beaded fibers from Thai silk fibroin and gelatin for controlled release application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 55, 176-184. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.01.006
- Sozer, N., Cicerelli, L., Heiniö, RL. & Poutanen, K. (2014). Effect of wheat bran addition on in vitro starch digestibility, physico-mechanical and sensory properties of biscuits. *Journal of Cereal Science*, 60(1), 105-113. doi:10.1016/j.jcs.2014.01.022

- Spatareanu, A., Bercea, M., Budtova, T., Harabagiu, V., Sacarescu, L. & Coseri, S. (2014). Synthesis, characterization and solution behaviour of oxidized pullulan. *Carbohydrate Polymers*, 111, 63-71. doi:10.1016/j.carbpol.2014.04.060
- Subbiah, T., Bhat, GS., Tock, RW., Parameswaran, S. & Ramkumar, SS. (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 96(2), 557-569. doi:10.1002/app.21481
- Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. & Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1-2), 47-55. doi:10.1016/s0168-1605(00)00380-9
- Syahariza, ZA. & Yong, HY. (2017). Evaluation of rheological and textural properties of texture-modified rice porridge using tapioca and sago starch as thickener. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1586-1591. doi:10.1007/s11694-017-9538-x
- Szajewska, H., Setty, M., Mrukowicz, J. & Guandalini, S. (2006). Probiotics in gastrointestinal diseases in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(5), 454-475. doi:10.1097/01.mpg.0000221913.88511.72
- Takamura, K., Fischer, H. & Morrow, NR. (2012). Physical properties of aqueous glycerol solutions. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 98-99, 50-60. doi:10.1016/j.petrol.2012.09.003
- Tamime, AY. & Robinson, RK. (2007). *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology*. CRC Press, Boca Ratón, USA, Pp. 535-607.
- Tan, PY., Tan, TB., Chang, HW., Tey, BT., Chan, ES., Lai, OM., Baharin, BS., Nehdi, IA. & Tan, CP. (2018). Effects of storage and yogurt matrix on the stability of tocotrienols encapsulated in chitosan-alginate microcapsules. *Food Chemistry*, 241, 79-85. doi:10.1016/j.foodchem.2017.08.075
- Tarique, J., Sapuan, SM. & Khalina, A. (2021). Effect of glycerol plasticizer loading on the physical, mechanical, thermal, and barrier properties of arrowroot (*Maranta arundinacea*) starch biopolymers. *Scientific Reports*, 11, 13900. doi:10.1038/s41598-021-93094-y
- Tavakoli, M., Habibi Najafi, MB. & Mohebbi, M. (2019). Effect of the milk fat content and starter culture selection on proteolysis and antioxidant activity of probiotic yogurt. *Heliyon*, 5(2), e01204. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01204
- Tayone, JC. (2015). Spectrophotometric determination of chromium (VI) in canned fruit juices. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 19, 426-432.
- Tiwari, S. & Verma, P. (2011). Microencapsulation technique by solvent evaporation method (study of effect of process variables). *International Journal of Pharmacy & Life Science*, 2(8), 998-1005.
- Tomasula, PM., Sousa, AMM., Liou, SC., Li, R., Bonnaille, LM. & Liu, LS. (2016). Short communication: Electrospinning of casein/pullulan blends for food-

- grade applications. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 1837-1845. doi:10.3168/jds.2015-10374
- Ural, S. & Yüksekdağ, Z. (2020). *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin farklı yöntemler ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 13-21.
- Vega-Lugo, AC. & Lim, LT. (2012). Effects of poly(ethylene oxide) and pH on the electrospinning of whey protein isolate. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 50(16), 1188-1197. doi:10.1002/polb.23106
- Vinderola, C. & Reinheimer, J. (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. doi:10.1016/s0958-6946(99)00120-x
- Wabnitz, G. (2008). Biogas from Kiwifruit waste. Maunsell Limited, Wellington, New Zealand, 103 pp.
- Wang, C., Wang, E., Bai, Y., Lu, Y. & Qi, H. (2023). Encapsulated fucoxanthin improves the structure and functional properties of fermented yogurt during cold storage. *Food Chemistry*, 419, 136076. doi:10.1016/j.foodchem.2023.136076
- Wang, J., Liu, B., Qi, Y., Wu, D., Liu, X., Liu, C. & Min, W. (2022). Impact of *auricularia cornea* var. *Li* polysaccharides on the physicochemical, textural, flavor, and antioxidant properties of set yogurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206, 148-158. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.02.141
- Wang, N., Hsu, C., Zhu, L., Tseng, S. & Hsu, JP. (2013). Influence of metal oxide nanoparticles concentration on their zeta potential. *Journal of Colloid and Interface Science*, 407, 22-28. doi:10.1016/j.jcis.2013.05.058
- Wang, S., Zhu, H., Lu, C., Kang, Z., Luo, Y., Feng, L. & Lu, X. (2012). Fermented milk supplemented with probiotics and prebiotics can effectively alter the intestinal microbiota and immunity of host animals. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4813-4822. doi:10.3168/jds.2012-5426
- Wang, X. & Hsiao, BS. (2016). Electrospun nanofiber membranes. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 12, 62-81. doi:10.1016/j.coche.2016.03.001
- Wang, Y., Guo, Z., Qian, Y., Zhang, Z., Lyu, L., Wang, Y. & Ye, F. (2019). Study on the electrospinning of gelatin/pullulan composite nanofibers. *Polymers*, 11(9), 1424. doi:10.3390/polym11091424
- Wei, L., Zhou, D. & Kang, X. (2021). Electrospinning as a novel strategy for the encapsulation of living probiotics in polyvinyl alcohol/silk fibroin. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 71, 102726. doi:10.1016/j.ifset.2021.102726
- Wijesena, RN., Tissera, ND., Rathnayaka, VWSG., de Silva, RM. & de Silva, KMN. (2020). Colloidal stability of chitin nanofibers in aqueous systems: Effect of pH, ionic strength, temperature & concentration. *Carbohydrate Polymers*, 235, 116024. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116024

- Wilson, WW., Wade, MM., Holman, SC. & Champlin, FR. (2001). Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *Journal of Microbiological Methods*, 43, 153-164.
- Wolf, I. V., Vénica, CI. & Perotti, MC. (2015). Effect of reduction of lactose in yogurts by addition of β -galactosidase enzyme on volatile compound profile and quality parameters. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(5), 1076-1082. doi:10.1111/ijfs.12745
- Wu, H., Fan, J., Qin, X. & Zhang, G. (2008). Thermal radiative properties of electrospun superfine fibrous PVA films. *Materials Letters*, 62(6-7), 828-831. doi:10.1016/j.matlet.2007.06.080
- Xiao, Q. & Lim, LT. (2018). Pullulan-alginate fibers produced using free surface electrospinning. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 809-817. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.02.005
- Xu, C., Ban, Q., Wang, W., Hou, J. & Jiang, Z. (2022a). Novel nano-encapsulated probiotic agents: Encapsulate materials, delivery, and encapsulation systems. *Journal of Controlled Release*, 349, 184-205. doi:10.1016/j.jconrel.2022.06.061
- Xu, C., Ma, J., Wang, W., Liu, Z., Gu, L., Qian, S., Hou, J. & Jiang, Z. (2022b). Preparation of pectin-based nanofibers encapsulating *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 by electrospinning. *Food Hydrocolloids*, 124, 107216. doi:10.1016/j.foodhyd.2021.107216
- Yang, Y., Zhang, R., Zhang, F., Wang, B. & Liu, Y. (2023) Storage stability of texture, organoleptic, and biological properties of goat milk yogurt fermented with probiotic bacteria. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1093654. doi: 10.3389/fnut.2022.1093654
- Yildiz, E. & Ozcan, T. (2018). Functional and textural properties of vegetable-fibre enriched yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 72(2), 199-207. doi:10.1111/1471-0307.12566
- Yilmaz, MT., Hassanein, WS., Alkabaa, AS. & Ceylan, Z. (2022). Electrospun eugenol-loaded gelatin nanofibers as bioactive packaging materials to preserve quality characteristics of beef. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100968. doi:10.1016/j.fpsl.2022.100968
- Yilmaz, MT., Taylan, O., Karakas, CY. & Dertli, E. (2020). An alternative way to encapsulate probiotics within electrospun alginate nanofibers as monitored under simulated gastrointestinal conditions and in kefir. *Carbohydrate Polymers*, 116447. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116447
- Yu, H., Liu, W., Li, D., Liu, C., Feng, Z. & Jiang, B. (2020). Targeting Delivery System for *Lactobacillus Plantarum* Based on Functionalized Electrospun Nanofibers. *Polymers*, 12(7), 1565. doi:10.3390/polym12071565
- Yuyu, E., Qi, Q., Chang, Z., Jiang, J., Yao, X., Li, P., Lei, F. & Wang, K. (2022). Fabrication of pH-sensitive galactomannan/glycerol bio-composite films for food packaging applications. *Reactive and Functional Polymers*, 181, 105465. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2022.105465

- Zabot, GL., Schaefer Rodrigues, F., Polano Ody, L., Vinícius Tres, M., Herrera, E., Palacin, H., Córdova-Ramos, JS., Best, I. & Olivera-Montenegro, L. (2022). Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications. *Polymers*, 14, 4194. doi:10.3390/polym14194194
- Zare, M., Dziemidowicz, K., Williams, GR. & Ramakrishna, S. (2021). Encapsulation of pharmaceutical and nutraceutical active ingredients using electrospinning processes. *Nanomaterials*, 11(8), 1968. doi:10.3390/nano11081968
- Zhang, H., Yang, C., Zhou, W., Luan, Q., Li, WL., Deng, Q., Dong, X., Tang, H. & Huang, F. (2018). A pH-responsive gel macrosphere based on sodium alginate and cellulose nanofiber for potential intestinal delivery of probiotics. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. doi:10.1021/acssuschemeng.8b02237
- Zhang, Y., Lim, CT., Ramakrishna, S. & Huang, ZM. (2005). Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(10), 933-946. doi:10.1007/s10856-005-4428-x
- Zhao, LM., Shi, LE., Zhang, ZL., Chen, JM., Shi, DD., Yang, J. & Tang, ZX. (2011). Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(3), 353-362. doi:10.1590/s0104-66322011000300001
- Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., Chen, X. D., Zhong, H., Wang, S., Sun, W. & Zhou, Q. (2012). Enzymatic hydrolysis of rice dreg protein: Effects of enzyme type on the functional properties and antioxidant activities of recovered proteins. *Food Chemistry*, 134(3), 1360-1367. doi:10.1016/j.foodchem.2012.03.033

EKLER

EK 1: İnvitro Gastrointestinal Koşullara Tabi Tutulan Yoğurt Örneklerinde Depolama Periyodu Boyunca *L. acidophilus* Ortalama Sayıları

Örnek	Depolama					
	1. gün		10. gün		20. gün	
	Başlangıç	Sonrası	Başlangıç	Sonrası	Başlangıç	Sonrası
KY	7,405±0,078 ^A	3,795±0,064 ^B	6,875±0,031 ^C	3,115±0,049 ^C	5,835±0,094 ^D	2,295±0,035 ^C
PY	7,380±0,028 ^A	4,240±0,099 ^B	6,975±0,037 ^{BC}	3,650±0,141 ^B	6,150±0,210 ^{CD}	3,015±0,021 ^B
PKÇY	7,405±0,035 ^A	4,235±0,021 ^B	7,060±0,029 ^B	3,580±0,184 ^{BC}	6,535±0,093 ^{ABC}	3,210±0,071 ^B
PPÇY	7,395±0,049 ^A	4,510±0,085 ^B	7,020±0,028 ^{BC}	3,725±0,078 ^B	6,385±0,134 ^{BC}	3,170±0,028 ^B
PPY	7,365±0,064 ^A	5,795±0,092 ^A	7,275±0,035 ^A	4,660±0,085 ^A	6,890±0,156 ^{AB}	3,995±0,049 ^A
PKÇPY	7,405±0,060 ^A	5,765±0,247 ^A	7,330±0,042 ^A	4,710±0,113 ^A	7,015±0,102 ^A	4,075±0,092 ^A
PPÇPY	7,425±0,064 ^A	5,745±0,375 ^A	7,340±0,057 ^A	4,705±0,134 ^A	6,970±0,107 ^A	4,085±0,134 ^A

Aynı sütunda örneklerin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($P<0.05$), farklı büyük harflerle gösterilmiştir (^{A-D}). Aynı harfler, değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığını göstermektedir ($P>0.05$). KY (kontrol); serbest *L. acidophilus* hücreleri, PY; pullulan/glisero1 nanolif + serbest *L. acidophilus* hücreleri, PKÇY; pullulan/KÇF/glisero1 nanolif + *L. acidophilus* hücreleri, PPÇY: pullulan/PÇF/glisero1 nanolif + *L. acidophilus* hücreleri, PPy: enkapşüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/glisero1 nanolif, PKÇPY: enkapşüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/KÇF/glisero1 nanolif, PPÇPY: enkapşüle şekilde *L. acidophilus* hücrelerini içeren pullulan/PÇF/glisero1 nanolif ilaveli örneklerin kodlarıdır. Nanolif ilaveli örneklerde nanolif oranı %3'tür. KÇF (kivi posası suda çözünür fraksiyonları) ve PÇF (portakal posası suda çözünür fraksiyonları)'nin nanoliflerdeki oranları kurumadde üzerinden %5'tir.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ersin ÇELEM
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C.
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ankara Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Gıda Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	10.06.2012
Yüksek Lisans	
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	21.10.2014
Doktora	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	-
Yayınlar	
1. Celem, E., Celik, O. & Tarakcı, Z. (2018). The effects of ripening on some physicochemical and microbiological characteristics of Çökelek cheeses: A market survey of fresh and skin-ripened Çökelek. <i>Journal of Central European Agriculture</i> , 19(2), 335-348. doi:10.5513/jcea01/19.2.2155	
2. Celem, E. & Celik, S. (2019). Characteristics and optimization of Runi Hiz production-A forgotten traditional Turkish product. <i>Journal of Central European Agriculture</i> , 20(2), 563-575. doi:10.5513/JCEA01/20.2.2058	