

***PROBİYOTİK BAKTERİLERİN
MİKROENKAPSÜLASYONLA SAĞLIĞA
YARARLI ETKİLERİNİN ARTTIRILMASI***

Fatih ORTAKCI

Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Selahattin SERT
2010
Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROBİYOTİK BAKTERİLERİN
MİKROENKAPSÜLASYONLA SAĞLIĞA YARARLI
ETKİLERİNİN ARTTIRILMASI**

Fatih ORTAKCI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2010**

Her Hakkı Saklıdır

Prof. Dr. Selahattin SERT danışmanlığında, Arş. Gör. Fatih ORTAKCI tarafından hazırlanan bu çalışma 17/08/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Selahattin SERT

İmza : 

Üye : Prof. Dr. İsmet HASENEKOĞLU

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Salih ÖZDEMİR

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

Y. Lisans Tezi

PROBİYOTİK BAKTERİLERİN MİKROENKAPSÜLASYONLA SAĞLIĞA YARARLI ETKİLERİNİN ARTIRILMASI

Fatih ORTAKCI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilimdalı

Danışman: Prof. Dr. Selahattin SERT

Probiyotik *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 suşu ekstrüzyon metoduyla mikroenkapsüle edilmiş, oluşturulan model sindirim sisteminde canlılığını sürdürebilme yeteneği araştırılmış ve fermente bir süt ürünü olan yoğurtta raf ömrü boyunca canlılığı izlenmiştir. %4 konsantrasyonlu aljinat süspansiyonunda immobilize edilen *L. acidophilus* ATCC 4356 probiyotik bakterisini içeren yoğurt örneklerinden depolama periyodunda belirli aralıklarla (0, 7, 14, 21, 28 gün) sayımlar yapılmıştır.

Aljinatla mikroenkapsülasyon işleminin oluşturulan model sindirim sisteminde *L. acidophilus* ATCC 4356 suşunun canlılığını korumada serbest formuna kıyasla oldukça etkili olduğu ortaya konulmuştur ($p < 0,01$). Ürünün raf ömrü süresince serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın sayısındaki azalış aynı seviyede ve çok önemli bulunmuş olup ($p < 0,01$), depolama periyodunda enkapsülasyon işleminin *L. acidophilus* ATCC 4356'yı koruyucu etkisi gözlenmemiştir. Mikroenkapsüle ve serbest *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarda depolama periyodunda pH'larda önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0,05$). Serbest, enkapsüle ve kontrol yoğurtlara ait duyusal analiz sonuçlarında enkapsülasyonun yoğurtların yapı ve tekstüründe önemli seviyede etkiye yol açtığı ($p < 0,05$) ancak genel kabul düzeyi olarak serbest, enkapsüle ve kontrol yoğurtlardaki farkın önemsiz seviyede olduğu gözlemlenmiştir ($p > 0,05$).

2010, 50 sayfa

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, mikroenkapsülasyon, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, model sindirim sistemi

ABSTRACT

Ms Thesis

IMPROVING THE HEALTH BENEFITS OF PROBIOTIC BACTERIA BY MICROENCAPSULATION

Fatih ORTAKCI

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Selahattin SERT

Probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 was microencapsulated by extrusion method and investigated its survival in simulated gastric digestion and during storage period in yoghurt which is a fermented dairy product. Yoghurt samples that contained encapsulated probiotic bacterium *L. acidophilus* ATCC 4356 was immobilized in alginate suspension has a concentration of 4% and enumerated in certain intervals (0, 7, 14, 21, 28) during storage period.

It was shown that, microencapsulation process with alginate has improved the survival of *L. acidophilus* ATCC 4356 in simulated gastric digestion very significantly ($p < 0,01$) than the free form of same strain. The decrease in the numbers of free and encapsulated *L. acidophilus* ATCC 4356 was similar and very significant ($p < 0,01$) during shelf life of product and protective effect of encapsulation process was not observed on *L. acidophilus* ATCC 4356 during storage period of the product. Yoghurts that contained free or encapsulated *L. acidophilus* ATCC 4356 had no significant differences in terms of pH. According to sensory analysis of yoghurts (containing encapsulated or free bacteria and control yoghurts), encapsulation was found to have significant effect on the structure and texture of yoghurts ($p < 0,05$), however, there were no significant difference in general acceptance between all kinds of yoghurts ($p > 0,05$).

2010, 50 pages

Keywords: Probiotic, microencapsulation, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, simulated digestive system

TEŞEKKÜR

Araştırmalarımın planlanması, yürütülmesi ve verilerin değerlendirilmesine kadar maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Selahattin SERT'e teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Gıda Müh. Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Mükerrerem KAYA'ya teşekkür ederim. Tecrübe ve rehberliklerinden faydalandığım, manen büyük desteğini gördüğüm değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fevzi KELEŞ ve Sayın Prof. Dr. Salih ÖZDEMİR'e şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarımda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde danışmanlığını esirgemeyen Utah State Üniversitesi, Western Dairy Center yöneticisi ve Gıda Bilimleri departmanı öğretim üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Donald J. McMahon'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Verilerimin yorumlanmasında desteğini gördüğüm Utah State Üniversitesi Gıda Bilimleri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Jeff Broadbent ve yine aynı departmanda görev yapan Araştırmacılar Sayın William Robinson McManus, Sayın Balasubramanian Ganesan'a teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimleriyle araştırmalarımın yorumlanmasında ve her konuda değerli desteğini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. K. Emre GERÇEKASLAN'a, rehberliğinden faydalandığım Sayın Yrd.Doç.Dr. Bülent ÇETİN'e ve çeşitli yardımlarını gördüğüm Sayın Arş. Gör. Hilal YILDIZ'a, her konuda samimiyetine inandığım arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Mehmet BAŞLAR ve Sayın Arş. Gör. Barış YALINKILIÇ'a, teknik konularda yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım K.Emre ÖZALTIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu zamana kadar maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyerek çok büyük fedakarlıklar gösteren annem Gülsüme ORTAKCI ve babam İ.Sefer ORTAKCI'ya, her zaman yanımda olan, uzun ve yorucu çalışmalarımda anlayışına ve samimiyetine inandığım eşim Nermin ORTAKCI'ya sonsuz teşekkür ediyorum.

Fatih ORTAKCI

Temmuz 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALARA DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	Viii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Süt ve yağsız süt tozu.....	19
3.1.2. Yoğurt kültürleri.....	19
3.1.3. Probiyotik kültür.....	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Deneme planı.....	19
3.2.2. Probiyotik suş ve geliştirilmesi.....	20
3.2.3. Mikroenkapsülasyon.....	20
3.2.4. Mikrokapsüllerin açılması ve bakterilerin sayımı.....	22
3.2.5. Mikroenkapsüle ve Serbest Bakterileri İçeren Yoğurtların Üretimi ve Depolanması.....	22
3.2.6. Model mide suyu ortamında <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın canlılığının incelenmesi.....	23
3.2.7. Model safra suyu ortamında <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın canlılığının incelenmesi.....	23
3.2.8. Depolama periyodunda yoğurt örneklerinden <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın selektif sayımı.....	23
3.2.9. Maya ve küf sayımı.....	24
3.2.10. Koliform sayımı.....	24
3.2.11. pH analizi.....	24

3.2.12. Duyusal analiz.....	24
3.2.13. İstatistiksel analizler.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	26
4.1. Serbest ve Enkapsüle <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın Depolama Süresince Yoğurtlardaki Gelişimi ve Yoğurtların pH Değişimleri.....	26
4.2. Model Mide Suyu ve Model Safra Suyu Ortamlarında İnkübe Edilen Serbest ve Enkapsüle <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın Canlılığındaki Değişim.....	33
4.3. Deneme Yoğurt Örneklerinde Koliform Grubu Bakterilerin Gelişimi.....	38
4.4. Deneme Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Gelişimi.....	39
4.5. Duyusal Analiz.....	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

~	Yaklaşık olarak
µm	Mikrometre
<i>B.</i>	<i>Bifidobacterium</i>
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
dak	Dakika
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
KO	Kareler Ortalaması
kob/g	Koloni Oluşturan Birim/Gram
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>
Log	Logaritma
M	Molarite
m.o.	Mikroorganizma
ml	Mililitre
mm	Milimetre
N	Normalite
Na ₂ HPO ₄	Disodium hidrojen fosfat
NaH ₂ PO ₄	Monosodium dihidrojen fosfat
rpm	Dakikada Dönme Hızı
<i>S.</i>	<i>Streptococcus</i>
SD	Serbestlik Derecesi
sp	Species (tür)
subsp	Subspecies (suş)

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
FAO	Food and Health Agricultural Organization of the United Nations
MMS	Model Mide Suyu
MSS	Model Safra Suyu
WHO	World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Sodyum aljinatın kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.2.	Ekstrüzyon ve Emülsiyon teknikleriyle bakterilerin enkapsülasyonuna ait akış diyagramı.....	10
Şekil 3.1	Kalsiyum-aljinat mikrokürelerinin görünüşleri.....	21
Şekil 4.1.	Deneme yoğurtlarda <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın canlılık oranı (%) üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi.....	30
Şekil 4.2.	Deneme yoğurtların pH değerleri üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi.....	32
Şekil 4.3.	MMS ortamında <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356'nın canlılık oranları (%) üzerine MMSİS x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi.....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Probiyotiklerin sağlığa yararları.....	4
Çizelge 1.2.	Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizmalar.....	5
Çizelge 1.3.	Ekstrüzyon ve emülsiyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları.....	11
Çizelge 3.1.	Deneme yoğurtlara ait duyu analizi formu.....	25
Çizelge 4.1.	Serbest ve mikrokapsüle edilmiş <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356 içeren yoğurtlarda depolama periyodunda yapılan sayımlar (log cfu/g) ve pH değerleri.....	26
Çizelge 4.2.	Deneme yoğurt Örneklerine ait <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356 sayıları (log cfu/g).....	27
Çizelge 4.3.	Deneme Yoğurt Örneklerine ait pH Değerleri.....	27
Çizelge 4.4.	Serbest ve enkapsüle edilmiş bakterileri içeren yoğurtların depolanmasında canlı m.o. oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları....	28
Çizelge 4.5.	Yoğurtların depolanmaları sırasında belirlenen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına (%) ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	28
Çizelge 4.6.	Depolama periyodunda belirlenen canlı m.o. oranlarına (%) ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	29
Çizelge 4.7.	Serbest ve enkapsüle edilmiş <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356 içeren yoğurtların depolama periyodunda pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	30
Çizelge 4.8.	Serbest ve enkapsüle bakterileri içeren yoğurtların depolanmasında belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	31
Çizelge 4.9.	Deneme Yoğurtlara ait pH değerlerinin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	32
Çizelge 4.10.	MMS ve MSS Ortamlarında Serbest ve Enkapsüle <i>L. acidophilus</i> sayıları (log cfu/g).....	33
Çizelge 4.11.	MMS Ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları	34
Çizelge 4.12.	MMS ortamında serbest ve enkapsüle bakterilerin canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	35
Çizelge 4.13.	MSS ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları.....	37
Çizelge 4.14.	MSS ortamında serbest ve enkapsüle bakterilerin canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	38
Çizelge 4.15.	Serbest, enkapsüle ve kontrol yoğurtlara ait duyu analizi sonuçları.....	39
Çizelge 4.16.	Serbest, enkapsüle ve kontrol yoğurtlara ait duyu analizi sonuçları.....	40
Çizelge 4.16.	Deneme yoğurtların duyu analizi puanlarına ait varyans analiz sonuçları	40

Çizelge 4.17.	Deneme yoğurtların yapı ve tekstür değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	40
Çizelge 4.18.	Deneme yoğurtların genel kabul edilebilirlik değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları.....	41

1.GİRİŞ

Probiyotiklerin insan sağlığına etkileri üzerine olan ilgi 1908 yılına kadar uzanmaktadır. Pastörün asistanı ve meslektaşı Metchnikoff insanoğlunun daha uzun yaşayabilmesi için laktobasillerle fermente edilmiş sütleri tüketmesini önermiştir. Bununla birlikte son zamanlarda intestinal m.o.'lar ve sağlığa faydaları arasındaki ilişki giderek daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Genel olarak sindirim sisteminde yer alan mikrobiyal popülasyondaki optimum denge iyi beslenme ve sağlıkla ilgilidir (Rybka and Kailasapathy 1995). Bu dengenin sağlanması öncelikli olarak etkiye sahip m.o.'lar laktobasiller ve bifidobakterilerdir. Giderek artan kanıtlar probiyotik m.o.'ların tüketiminin belirtilen etkin mikrobiyal profilin korunmasında ve daha birçok terapötik yararlar sağlamasında etkili olduğunu göstermiştir (Lourens-Hattingh and Viljoen 2001). Bu aşamadan itibaren probiyotik terimi ortaya çıkmış ve değişik tanımlamalar yapılmıştır.

Fuller (1992) probiyotikleri konakçının barsak mikrobiyel dengesini geliştirerek konakçı üzerinde yararlı etkiler yapan canlı mikrobiyel supplementler olarak tanımlamışken FAO/WHO (2002) probiyotikleri, yeterli miktarlarda vücuda alındıklarında konakçı üzerinde faydalı etkiler gösteren canlı m.o.'lar olarak tanımlamıştır. Probiyotiklerin faydaları; barsak enfeksiyonunun kontrolü, serum kolesterol düzeylerini kontrol etme ve laktoz intolerans hastalarında laktoz kullanımını geliştirmeye yardımcı olmak şeklinde sıralanabilir (Krasaekoopt *et al.* 2003). Ayrıca, probiyotiklerin antikarsinojenik ve antimutajenik aktivitelerinin olduğu da belirtilmektedir. Bu aktivitenin; karsinojenin ve/veya prokarsinojenin inhibisyonu, prokarsinojenleri karsinojenlere dönüştüren bakterilerin inhibisyonu, konakçının bağışıklık sisteminin aktivasyonu ve mikrobiyel aktiviteyi düşürmek için barsak pH'sını düşürmek gibi bir veya daha fazla faktörden kaynaklanabildiği düşünülmektedir (Rasic and Kurmann 1983; Gilliland 1989). Buna ilave olarak, özellikle *L. acidophilus* suşları için hipokolesterolemik etkiler (kan kolesterolünün düşmesi) bildirilmiştir (Gilliland 1989; Buck and Gilliland 1994).

Son yıllarda bakteriler gıdalarla kombine şekilde diyetel ilaveler olarak artan bir şekilde boy göstermekte, probiyotikler gıda komponenti olarak ya da doğrudan tüketilebilmektedir. Probiyotik m.o.'ları içeren gıdalar fonksiyonel gıdalar kategorisinde ele alınmakta ve sağlığa pozitif etkilere sahip olduğu bildirilen gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Gelişen dünyada bu tarz gıdaların popülaritesi ve kabüledilirliği insanların bilinçlenmelerine bağlı olarak giderek artmakta, Japonya ve ABD'de uzun bir süredir kabul görmektedir. Yine probiyotiklerin sağlığa oldukça ciddi faydalı etkilerinin ortaya çıkmasına bağlı olarak probiyotiklere olan ticari ilgi oldukça hızlı bir artış göstermiş ve bu sektörün çok hızlı gelişmesine olanak tanımıştır. Günümüzde probiyotik m.o.'lar için en popüler taşıyıcı gıdalar yoğurt, fermente sütler, kültür içeren fermente edilmemiş sütler ve çok çeşitli peynirlerdir (Stanton *et al.* 1998).

Probiyotik potansiyelleri sebebiyle birçok farklı mikroorganizma süt ürünlerine ilave edilmektedir (Fuller 1997; Gibson and Fuller 1998). Canlı *L. acidophilus* ve *B. bifidum* hücrelerinin taşınmasında en önemli süt ürünlerinden biri bio-yoğurttur. Terapötik minimumun sağlanabilmesi için yeterli sayılarda canlı hücrelerin düzenli bir şekilde tüketilmesiyle probiyotik etkinin tüketiciye transfer olması gerekmektedir. Tüketim günlük olarak 10^6 kob/g içeren bio-yoğurttan 100 g'dan fazla olmalı ve yine probiyotiklerin tüketim öncesinde canlılıkları büyük önem arz etmektedir (Lourens-Hattingh and Viljoen 2001).

Birçok ülkede fermente ürünlerdeki probiyotik bakterilerin sayıları için standartlar geliştirilmiştir. Örneğin MERCOSUR ülkeleri (Arjantin, Paraguay, Brezilya ve Uruguay) tarafından onaylanan bir düzenleme ile fermente sütlerle ilave edilen bifidobakteriler için minimum düzey 10^6 kob/g olarak tespit edilmiştir (Pagano 1998). Japonya'da ise Fermente Sütler ve Laktik Asit Bakteri İçecekleri Kuruluşu tarafından taze süt ürünlerinde ml'de minimum 10^7 canlı probiyotik bakteri hücresi gerektiren bir standart geliştirilmiştir (Robinson 1987).

Yoğurtta probiyotik bakteriler için tavsiye edilen minimum düzey 10^6 kob/g, (Robinson 1987; Kurman and Rasic 1991) veya günlük vücuda alım miktarı yaklaşık 10^8 olmalıdır

(Anonymous 1992). Gomes and Malcata (1999) ve Shah *et al.* (2000)'e göre tüketimden hemen önce canlı bifidobakteriyal hücrelerin üründe bulunması tavsiye edilen düzey 10^6 kob/g ürün olup günlük alınması tavsiye edilen toplam düzey 10^8 canlı hücredir. Ishibashi and Shimamura (1993)'e göre ise fonksiyonel gıdalar en az 10^7 kob/g canlı probiyotik m.o. içermeli ve sağlığa pozitif etkiler göstermesi için bu gıdaların günlük tüketim miktarı 100 g/gün'den fazla olmalıdır.

Probiyotik m.o.'ların sağlığa yararları Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Probiyotiklerin Sağlığa Yararları (Gorbac 2002)

Kanıtlanmış Yararlar
Akut Rotavirus diarezi ve gastroenteridisin önlenmesi ve tedavisinde Antibiyotik ilişkili diarenin tedavisinde
Önemli delillerle ortaya konulmuş ancak daha fazla kanıt ihtiyacı duyulan faydaları
Gıda alerjisi ve atopik egzemanın önlenmesi <i>Clostridium difficile</i> enfeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesi Günlük bakım merkezlerindeki çocuklarda meydana gelen akut solunum yolu enfeksiyonlarının önlenmesi Vajina iltihabının (vajinitis) tedavisi ve önlenmesi (candida ve bakteriyal vajinosis) Seyahatçilerde meydana gelen diarenin önlenmesi
Ümit verici alanlarda devam eden araştırmalar
Chron hastalığı, ülseratif kolit ve poşutisin tedavisi Astım gibi allerjik hastalıkların önlenmesi Sistik fibröze karşı (intestinal septomlar ve solunumla ilgili vakalar) Çocuklarda diş çürümelerinin önlenmesi Kabızlığın hafifletilmesi Rahatsız edici barsak sendromlarının tedavisinde Bağışıklığa yardımcı maddeler olarak oral aşılara yoğunlaştırılarak ilavesi <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonlarının önlenmesi
Gelecekte Araştırmaların yapılacağı alanlar
Kolon kanserinin önlenmesi(Sadece hayvanlardan elde edilen veriler mevcut) Mesane kanserinin tedavisi Romatizma, eklem iltihabı ve kireçlenmeye karşı Cinsel yollarla geçen hastalıklar ve HIV'e karşı Vitamin, insulin, lisin, bakteriyal ya da viral immunojenleri içeren genlerin ilavesi ile genetiği modifiye probiyotiklerin elde edilmesi

Görüldüğü üzere probiyotiklerin sağlığa çok önemli faydalar göstermesi bu m.o.'ları barındıran gıdaları önemli hale getirmiş ve bu aşamada probiyotik gıdalarda kullanılan m.o.'lar Çizelge 1.2'de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Probiyotik Gıdalarda Kullanılan Mikroorganizmalar (Tannock 1997)

İnsan Beslenmesinde Kullanılanlar	Hayvanların beslenmesinde kullanılanlar
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus delbruckii</i> subs <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus delbruckii</i> subs <i>bulgaricus</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Torulopsis spp.</i>

Yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin probiyotiklerin tüketicilere ulaştırılmasında birer taşıyıcı araç olarak kullanımları oldukça yaygın ve kabul gören bir uygulamadır. Fermente sütler sadece besleyici değil aynı zamanda insanda belirli immunolojik fonksiyonlar gösteren tedavi edici ajanlardır (Reid *et al.* 2001; Meydani and Ha 2000). Ancak bifidobakterilerin yoğurttaki canlılıkları oldukça düşüktür, çünkü antimikrobiyal ajanlar olarak bilinen ve yoğurt pH'sını düşüren(4,2-4,6) laktik ve asetik asit oluşumuna tolerans gösteremezler (Lankaputhra *et al.* 1996).

Normal yoğurt kültürleri olan *Lactobacillus delbruckii* spp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*, yoğurtta β -galaktozidaz üretmekte ancak, bu bakteriler intestinal sistemde düşük safra tuzu toleransları sebebiyle gelişmemekte ve

canlılıklarını koruyamamaktadırlar. M.o.'ların konakçıda canlılığını sürdürebilme ve çoğalabilme yeteneği probiyotik faydalarını güçlü bir şekilde etkilemektedir. Bakteriler, üründe metabolik olarak stabil ve aktif olmalı, sindirim sisteminde yüksek oranda canlı kalabilmeli ve konakçı barsaklarında yararlı etkiler gösterebilmelidir (Krasaekoopt *et al.* 2003).

Bir çok çalışma yoğurt ve fermente sütlerde probiyotiklerin canlılıklarını sürdürebilme yeteneklerinin düşük olduğunu göstermektedir. (Shah *et al.* 1995; Dave and Shah 1997; Shah and Lankaputhra 1997; Gardini *et al.* 1999; Schillinger 1999; Vinderola *et al.* 2000). Ravula and Shah (1998) çok yüksek sayılarda probiyotik bakterileri içeren fermente dondurulmuş süt ürünlerindeki probiyotiklerin canlılıklarını sürdüremediklerini, -18°C'de 8-12 hafta depolama sonunda 5-6 log düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Hekmat and McMahon (1992) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Lankaputhra and Shah (1995) ise *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp.'nin asit ve safra tuzları ortamında canlılıklarını sürdürebilme yeteneklerinin düşük olduğunu bildirmişlerdir.

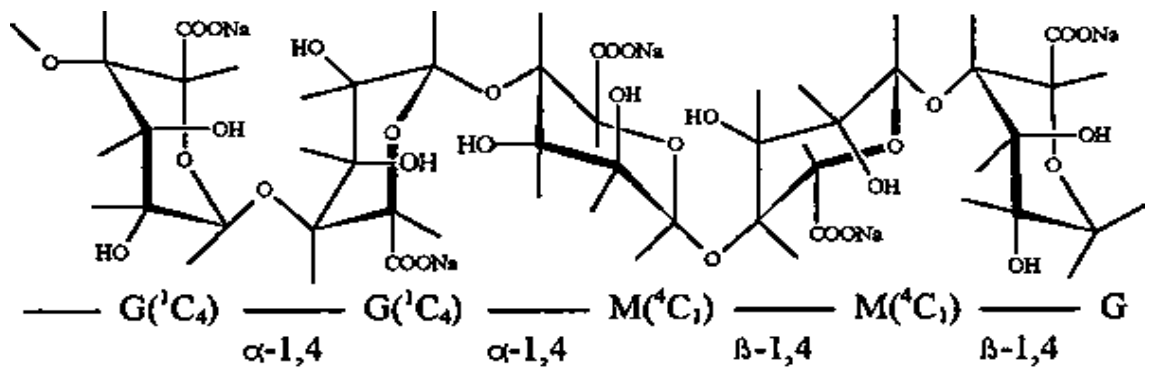
Probiyotik bakterilerin sağlığa faydalı etkilerinden yararlanmak için gıdalarda kullanımı günümüz dünyası gıda sanayiinde giderek artan bir trend halini almıştır, ancak yukarıda bahsedildiği üzere probiyotiklerin proses stabiliteleri her zaman optimal değildir. Bu nedenle probiyotik organizmaların fermente süt ürünlerinde canlılıklarının geliştirilmesi ihtiyacı doğmuştur (Gomes and Malcata 1999; Shah 2000; Kailaspathy and Chin 2000).

Mikroenkapsülasyon teknolojisi gıda üretim prosesinde ve depolamada m.o.'ların canlılıklarının korunmasında kullanılabilir. En önemli olgu ise enkapsülasyonun, mikroorganizmaların gastrointestinal sistemden geçerken canlı kalabilmesini sağlaması ve hedef bölgede (barsaklar) m.o.'ların salınımına olanak tanınmasıdır. Probiyotikler dahil çeşitli bakteriyel kültürlerin mikroenkapsülasyonu onların muhafaza ömrünü uzatmak ve kullanımlarını kolaylaştıracak bir toz formuna dönüştürmek için kullanılagelen yaygın bir metottur. Kültürleri kapsüllemek ve konsantre toz formuna dönüştürmek için sprey kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yatak kurutma gibi

çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Ancak, bu tekniklerle kapsüllenen bakteriler üründe tamamen açılmaktadır. Bu durumda kültürler ürün ortamından, mide veya barsak sisteminden geçerken korunamamaktadır. Mikroenkapsülasyon çalışmalarında en yaygın trend aljinat, κ -karragenan, kitosan, ksantan gum, gellan gum gibi uygun polimerler kullanılarak yapılan tutuklama işlemidir. Hidrokolloid damlacıklar içinde enkapsülasyon, damla matriksi içindeki hücreleri immobilize eder ve sonuç olarak böyle bir ortamda korunma sağlar (Krasaekoopt *et al.* 2003).

İmmobilizasyon, hücrelerin serbest hareketlerini sınırlayan herhangi bir metot olarak tanımlanmaktadır. Genelde bağlanma ve tutuklama olmak üzere 2 tip immobilizasyon vardır. Bağlanma tekniğinde m.o.'lar bir yüzeye adsorbsiyon yada kovalent bağlanma ile veya diğer m.o.'lara flokülasyon ve hücrelerin çapraz bağlanmasıyla tutunmaktadır. Tutuklama ise hücrelerin poröz materyalde fiziksel olarak sınırlanmasını yada matriks veya polimer jelde enkapsülasyonu ifade etmektedir. Polimerlerin iyonotropik jelasyonu canlı hücrelerin enkapsülasyonu başarılılabilmektedir. En iyi bilinen örnek ise kalsiyum-aljinat jelidir ancak diğer polimer zıt iyon sistemleri de kullanılabilir. Jel ağının oluşumu polianyonların iyonik çapraz bağlanmasına yada polikasyonların çok değerlikli zıt iyonlarla interaksiyonu ile gerçekleşmektedir. Oluşan jellerin karakteristik özellikleri bir dizi faktöre göre şekillenmekte olup en önemli faktör taşıyıcı materyalin (aljinat) özellikleridir (Ellenton 1998).

Sodyum aljinat, aljinik asitin sodyum tuzudur. Moleküler formülü $(C_6H_7NaO_6)_n$ olup kimyasal yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Sodyum aljinatın kimyasal yapısı (<http://www.fao.org>)

Aljinat, D-mannuronik ve L-gluronik asitlerden oluşan iki yapısal ünite ile değişik tip alglerden ekstrakte edilen linear bir heteropolisakkarittir. Aljinat ile hücrelerin enkapsüle edilerek korunması ve canlılıklarının sürdürülebilmesinin sağlanması en yaygın trendtir. Sheau *et al.* (1993) donmuş buzlu sütteki laktobasiller için kalsiyum aljinatın iyi bir koruma sağladığını bildirmişlerdir. Kalsiyum-aljinat probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunda özellikle de %0,5-4 konsantrasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Sheu and Marshall 1993; Kim *et al.* 1996; Jankowski *et al.* 1997; Khalil and Mansour 1998; Kebary *et al.* 1998; Lee and Heo 2000; Shah and Rarula 2000; Sultana *et al.* 2000; Hansen *et al.* 2002).

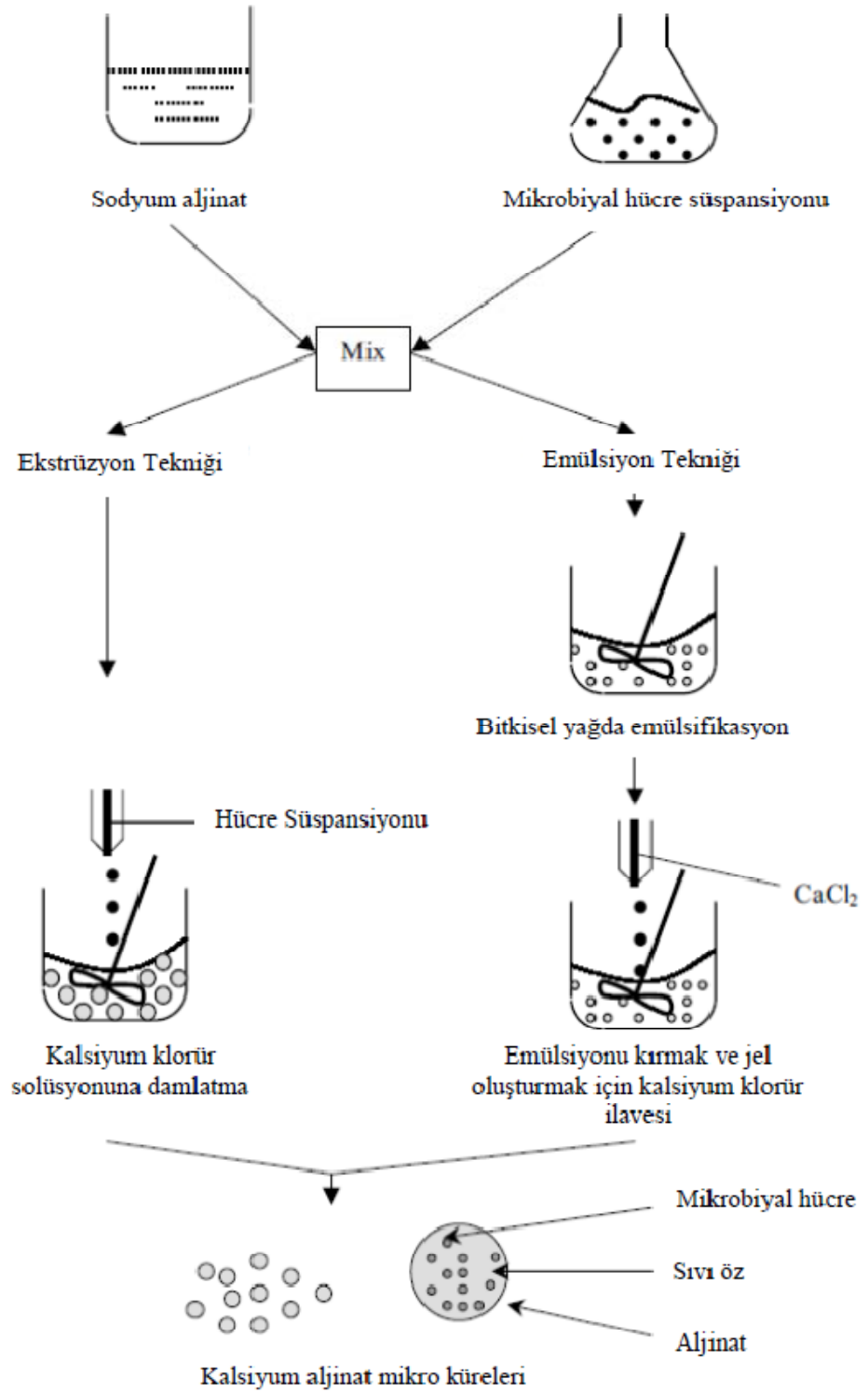
Aljinat kapsüllerinin bazı avantajları şunlardır:

- Bakteri hücrelerinin etrafında kolay bir şekilde jel matriksi oluştururlar.
- Vücut için toksik değildir (güvenli ya da vücuda uyumludur).
- Ucuzdur.
- Performansları için (sıcaklık gibi) hafif proses koşulları gereklidir.
- Kolayca hazırlanabilir ve uygulanabilir.
- Barsakta uygun bir şekilde çözünür ve tutuklanmış hücreleri serbest bırakır (Klien *et al.* 1983; Tanaka *et al.* 1984; Martinsen *et al.* 1989; Prevost and Divies 1992; Dimantov *et al.* 2004; Chandramouli *et al.* 2004; Gouin 2004).

Bakteri hücrelerinin iyi korunmasının yanı sıra aljinat-nişasta karışımları mikrobelerin ve metabolitlerin kapsüllerin içinden ve tutuklanmış hücrelerin içinden ve dışından diffüze olmalarını sağlar. Sonuç olarak damlacıklar metabolik olarak aktif hücreler içerirler (Jankowski *et al.* 1997). Sonuç olarak birçok araştırmacı (Sheu and Marshall 1993; Dinakar and Mistry 1994; Adhikari *et al.* 2000; Adhikari *et al.* 2003) süt ürünlerinde probiyotiklerin canlılıklarını artırmak için kalsiyum-aljinat veya κ-karragenan kullanarak mikroenkapsülasyon işlemini başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon tekniğinin amacı, probiyotik m.o.'ların çevresinde fiziksel bir bariyer oluşturarak olumsuz çevre koşullarına karşı m.o.'nın canlılığını korumasını sağlamaktır. Bu yöntemde aktif m.o. çevresinde çeşitli maddelerle koruyucu bir film veya kaplama tabakası oluşturulmaktadır. Mikroenkapsülasyon tekniği ile kaplanan m.o.'lar, 200µm-2000 µm çaplı partiküller içerisinde canlılıklarını koruyabilmektedir (Çakır 2006).

Probiyotik bakterilerin kalsiyum-aljinatla mikroenkapsülasyonu genelde emülsiyon ve ekstrüzyon tekniği olmak üzere 2 şekilde yapılmaktadır. Ekstrüzyon tekniğinde şekilde de görüldüğü üzere kültür konsantratu ve sodyum aljinat karışımı bir ekstrüder (şırınga gibi) yardımıyla CaCl₂ çözeltisine damlalar şeklinde ilave edilmekte ve karıştırıcıyla karıştırılmakta olup bu proses sonunda mikrokapsüller oluşmaktadır. Emülsiyon tekniğinde ise kültür konsantratu ve sodyum aljinat süspansiyonu (kesikli faz), emülsifier (Tween-80, Span-80) ilave edilerek homojenize edilmiş soya fasülyesi yağı, mısır yağı, kanola yağı, ayçiçek yağı gibi bir bitkisel yağa (kesiksiz faz) damlalar şeklinde ilave edilerek homojenizatörle W/O (Water-in-oil) emülsiyonu elde edilene kadar homojenize edilmektedir. CaCl₂, emülsiyonu kırmak ve kalsiyum-aljinat jelini oluşturup m.o.'ların bu jel içinde enkapsülasyonunu gerçekleştirmek için ilave edilmektedir. Bakterilerin emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleriyle enkapsülasyonuna ait akış diyagramı Şekil 1.2'de, ekstrüzyon ve emülsiyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları ise Çizelge 1.3'te verilmiştir.



Şekil 1.2. Ekstrüzyon ve Emülsiyon teknikleriyle bakterilerin enkapsülasyonuna ait akış diyagramı (Krasaekoopt *et al.* 2003)

Çizelge 1.3. Ekstrüzyon ve emülsiyon tekniklerinin avanaj ve dezavantajları (Krasaekoopt *et al.* 2003)

	Ekstrüzyon	Emülsiyon
Teknolojik fizibilite	Zor	Daha Kolay
Maliyet	Düşük	Yüksek
Kolaylık	Kolay	Daha zor
M.o.'ların canlılıklarını sürdürebilme durumları	%80-95	%80-95
Kapsüllerin boyutları	2-5 mm	25 µm-2 mm

Bu tez çalışmasında probiyotik özelliğinden en fazla yararlanan bakterilerden olan *L. acidophilus* ATCC 4356 suşu, sodyum aljinat ile mikroenkapsüle edilerek yada serbest formda yoğurda ilave edilmiştir. Depolama periyodu ve oluşturulan model sindirim sisteminde mikroenkapsulasyonun *L. acidophilus* ATCC 4356 suşunu bu stres ortamlarından koruyucu etkisi incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Sheu and Marshall (1993), laktobasillerin kontinu dondurma makinesinde dondurulan buzlu süt karışımlarına eklendiği zaman canlı hücre sayısının düştüğünü izlemişlerdir. İzlenen ölüm oranı, donmuş ürün dondurucudan çıkarıldıktan hemen sonra en üst düzeyde olmuş ve depolama esnasında yavaşlamıştır. Yani, dondurma işleminin yol açtığı en büyük tahribat, laktobasiller dondurma makinesindeyken meydana gelmiştir. Dondurma makinesinin içindeki hücelere gelen tahribatın, buz kristallerinin oluşması sebebiyle gerçekleştiği düşünülmüştür. Dondurma işleminin yol açtığı hasara karşı direnç *L. bulgaricus*'un iki tipik suşu (L2 ve rr suşları) arasında farklılık göstermiştir. Araştırmacılar, iki hafta dondurarak depolama sonrasında canlı bulunan enkapsüle edilmiş hücrelerin yüzdelerini yaklaşık olarak L2 suşu için %90 ve rr suşu için ise %25 olarak belirlemişlerdir. Enkapsüle edilmemiş (serbest) hücreler arasında canlı kalan hücrelerin yüzdesi çok daha düşük olup, L2 ve rr suşları için sırasıyla yaklaşık %45 ve %5 olarak bulmuşlardır. rr suşunun hücreleri L2 suşunun hücrelerinden çok daha büyük, bu da büyük hücrelerin mekanik hasarlara karşı küçük hücelere göre daha hassas olduğunu göstermektedir. Enkapsüle edilmiş hücrelerin, aynı suş içinde kıyaslandığında, serbest hücelere ($p<0.05$) göre dondurma işlemine karşı canlılıklarını daha yüksek düzeyde sürdürebildikleri gözlenmiştir. Canlı sayılarının enkapsüle hücrelerde serbest hücelere göre %40-45 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Mikroenkapsülasyonun bakterileri koruma etkisi, hem dondurma makinesinde hem de dondurarak depolama esnasında dikkate değerdir ($p<0.05$) (Sheu and Marshall 1993).

Yoğurt üzerine yapılan bir çalışmada mikroenkapsüle edilmiş bifidobakterilerin yoğurttaki canlılıkları incelenmiş 4,4°C'de 30 günlük depolama sonunda enkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin sayısında önemli bir azalma olmamışken serbest bakteri popülasyonunda yaklaşık %90'lık bir azalış gözlenmiştir (Adhikari *et al.* 2003). Bu çalışma, yoğurtta depolama periyodunda mikroenkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin canlılıklarının serbest formlarına göre son derece yüksek olduğunu göstermiştir.

Khalil and Mansour (1998) mayonez üzerine yaptıkları bir araştırmada, başlangıçta sırasıyla $9,2 \times 10^6$ ve $8,9 \times 10^6$ kob/g serbest *B. bifidum* ve *B. infantis* bakterilerinin soğuk depolama şartlarında canlılık düzeylerinin 1. hafta sonunda sırasıyla $4,1 \times 10^4$ ve $3,2 \times 10^4$ kob/g'a dūřtüklerini bildirmişlerdir. 2. hafta sonunda hiçbir canlı hücre tespit edilememiştir. Bu dūřüşler mayonezdeki laktik asitin bakterisidal aktivitesine atfedilmiştir (Collins 1985; Lock and Board 1994). Enkapsüle edilmiş *B. bifidum* ve *B. infantis*'in canlılıkları 2. hafta sonunda sırasıyla $\sim 8,6 \times 10^5$ ve $\sim 6,5 \times 10^5$ kob/g'a dūřmüřtür. Enkapsüle bifidobakterilerin canlılığı, 12 haftalık depolama periyodunda son 2 haftaya kadar yavaşça azalmış ve depolama sonunda sırasıyla *B. bifidum* ve *B. infantis* için $\sim 9,8 \times 10^2$ ve $\sim 4,1 \times 10^2$ kob/g'a dūřmüřtür. Bu azalışın; aljinat boncuklarının kısmen degrade olmasıyla bifidobakterilerin mayonez içinde serbest kalması ve sonuç olarak serbest hücrelerin (mikrokapsüllerden kurtulmuş) asetik asitin bakterisidal aktivitesinden etkilenmesiyle gerçekteşiği bildirilmiştir. Enkapsüle edilmiş bifidobakterileri içeren mayonezler sırasıyla *B. bifidum* ve *B. infantis* için 8 hafta sonra $1,2 \times 10^5$ ve $5,2 \times 10^5$ kob/g gibi yüksek sayılarda canlılıklarını sürdürmüşlerdir. Bu sayılar bifidobakterilerin faydalı etkiyi gösterebilmesi için ürün tüketiminden hemen önce gerekli minimum düzey olan 10^6 'ya yakındır.

Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu üzerine yapılan diğer bir araştırmada, emülsiyon ya da ekstrüzyon tekniği kullanılarak aljinatla mikroenkapsüle edilmiş ve serbest *L. reuteri* probiyotik bakterisi sucuk hamuruna katılmıştır. Sucuğun kurutulmasından sonra mikroenkapsüle edilmiş bakterilerin yer aldığı sucuktaki *L. reuteri* sayısında $\leq 0,5$ log birimlik azalış meydana gelmişken serbest *L. reuteri* yer alan sucuktaki *L. reuteri* sayısında 2,6 log birimlik bir azalış meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca mikroenkapsüle ve serbest probiyotik *L. reuteri*'nin yer aldığı sucuklarda herhangi bir duyusal, fiziksel ve kimyasal farklılık gözlemlenmemiştir (Muthukumarasamy and Holley 2006). Bu araştırma da probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonunun, bu bakterilerin canlılıklarını korumada etkin bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Yapılan bir diğerk çalışmada κ-karregenana ile mikroenkapsüle edilen ve salamura beyaz peynirde kullanılan *B. bifidum* BB-12 ve *L. acidophilus* LA-5'in canlılığı incelenmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik bakterilerin sayısını sağlığa yararlı minimum ($>10^7$ kobg⁻¹)'dan yüksek tutmada etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Probiyotik bakterilerin sayısı, probiyotiklerin serbest hücre olarak kullanıldığı kontrol peynirinde yaklaşık 3 log düşmesine rağmen, bu düşüş mikroenkapsüle edilmiş hücreleri içeren peynirlerde daha azdır (yaklaşık 1 log) (Özer *et al.* 2009).

Ding and Shah (2007)' in yaptığı bir çalışmada 8 farklı probiyotik suşun asit, safra tuzu ve sıcaklık toleransları araştırılmıştır. Aljinat matriks ile probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu, bakterilerin 65°C'de 30 dak. ısıl işlem sonrasında 4,17 log kob/ml'lik bir azalma göstermesiyle sonuçlanmış, serbest bakterilerin ise tamamının inaktif olduğu bildirilmiştir. Yine pH 2 olan oldukça düşük bir asit ortamda mikroenkapsüle edilmiş bakteriler serbestlere göre canlılıklarını çok daha yüksek düzeyde koruyabilmiştir. Yüksek safra tuzu konsantrasyonunda da, enkapsüle bakterilerin serbest bakterilere oranla daha yüksek düzeyde canlılıklarını sürdürdükleri gözlemlenmiştir.

Özer *et al.* (2008) emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleriyle mikroenkapsüle edilmiş *L. acidophilus* LA-5 ve *B. bifidum* BB-12 probiyotik m.o.'larını kaşar peynirine ilave etmişler, üretim prosesinde ve takip eden 3 aylık olgunlaşma periyodu boyunca serbest ve mikroenkapsüle probiyotiklerin canlılıklarını incelemişlerdir. Kaşar peyniri üretim prosesinde haşlama işleminden sonra mikroenkapsüle LA-5'in sayısında ~0,5 log düşüş meydana gelmişken serbest LA-5 sayısı ~2 log azalmıştır. Olgunlaşmanın sonunda (3. ayın sonunda) ise serbest LA-5 ~ 3,5 log azalmışken mikroenkapsüle LA-5 sayısında ~ 2,5 log birimlik bir azalış gözlemlenmiştir. Üretim prosesinde uygulanan haşlama işlemi sonunda mikroenkapsüle edilmiş *B. bifidum* BB-12 sayısında yaklaşık 0,5 log düşüş meydana gelmişken serbest BB-12 sayısında yaklaşık 2,5 log düşüş olduğu tespit edilmiştir. Üç aylık olgunlaşma periyodu sonunda ise mikroenkapsüle BB-12 sayısında toplamda yaklaşık 2 log düşüş meydana gelmişken serbest BB-12 sayısında ~7 log düşüş meydana gelmiştir. Uygulanan mikroenkapsülasyon tekniği

(emülsiyon/ekstrüzyon) ise probiyotiklerin canlılıklarını sürdürmelerinde farklılık göstermemiştir.

Heidebach *et al.* (2009 a) süt proteinlerinin rennet enzimiyle koagülasyonu esasına göre *L. paracasei* ssp. *paracasei* F19 ve *B. lactis* Bb12 probiyotik bakterilerinin mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmişler ve ortalama 68 ± 5 µm boyutlarında suda çözünmeyen küresel kapsüller elde etmişlerdir. Elde ettikleri mikrokapsülleri düşük pH seviyelerinde inkübe etmişler, enkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin canlılıklarının serbest bakterilere oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. pH 2,5'te 90 dak inkübe edilen enkapsüle *L. paracasei* ssp. *paracasei* F19 ve *B. lactis* Bb12'nin canlı sayıları yine pH 2,5'te 90 dak inkübe edilen serbest formlarına kıyasla sırasıyla 0,8 ve 2,8 log kob/g daha yüksek çıkmıştır. Enkapsüle hücrelerin canlılık düzeylerinin serbest formlarına göre daha yüksek çıkmış olması mikrokapsüllerdeki protein matrikslerinde yer alan proteinlerin tamponlama kapasitesinden kaynaklanan daha yüksek lokal pH sebebiyle olduğu ve dolayısıyla düşük pH'lı model mide şartlarından hücreleri koruduğu şeklinde açıklanmıştır. Bu çalışma iyonotropik ürün polimer solüsyonlarının jelleştirilmesi esasına dayanan rennet enzimiyle yağsız süt konsantratlarının koagülasyonunun, probiyotik hücrelerin mikroenkapsülasyonunda alternatif olarak günümüz teknolojilerinden biri olarak uygulanabilir olduğunu ortaya koymuştur.

Heidebach *et al.* (2009 b) probiyotik hücrelerin enkapsülasyonunda yeni bir metot olarak kazein mikrokapsüllerini geliştirmişlerdir. Enkapsülasyon prosesi probiyotik hücreleri içeren kazein süspansiyonlarının transglutaminaz enziminin katalizmesiyle gerçekleştirilen koagülasyonu esasına dayanmaktadır. Bu proses sonunda suda çözünmeyen ortalama olarak 165 ± 23 µm boyutlarında küresel kapsüller elde edilmiştir. Hazırlanan pH 2,5 ve pH 3,5 olan pepsinsiz model mide suyunda 37°C'de 90 dak inkübasyon sonunda serbest ve enkapsüle probiyotiklerin canlılık düzeyleri test edilmiş, tüm bu şartlarda mikroenkapsülasyon işlemi bakterilerin canlılıkları üzerine koruyucu etki göstermiştir. Bu çalışma transglutaminaz enzimiyle kazeinin jelleştirilmesi prosesinin probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kullanılabileceğini ortaya koymuş ayrıca yoğun kazein matriksinde tutuklama işleminin insan midesiyle benzer pH

seviyelerindeki ortamlarda bakterileri koruduğunu göstermiştir.

Homayouni *et al.* (2008) mikroenkapsülasyon ve dirençli nişastanın probiyotiklerin canlılıklarını sürdürmelerinde ve sinbiyotik dondurmanın duyuşal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmada serbest ve enkapsüle *L. casei* (Lc-01) ve *B. lactis* (Bb-12) içeren dondurmalara %1 oranında nişasta ilave etmişlerdir. *L. casei* (Lc-01) ve *B. lactis* (Bb-12)'in canlılıklarını sürdürebilirlikleri -20°C'de 180 gün boyunca incelenmiştir. Serbest Lc-01 ve Bb-12'nin canlılık düzeyleri depolamanın birinci gününde sırasıyla $5,1 \times 10^9$ ve $4,1 \times 10^9$ kob/ml iken -20°C'de 180 gün depolama sonunda sırasıyla $4,2 \times 10^6$ ve $1,1 \times 10^7$ kob/ml'ye düşmüştür. Belirtilen bakteriler kalsiyum-aljinat ile enkapsüle edildiğinde ise aynı depolama süre ve şartlarında probiyotiklerin canlılıklarını sürdürebilme yetenekleri %30 oranında artış kaydetmiştir. Bu sonuçlara göre enkapsülasyon, probiyotik bakterilerin canlılıklarını sürdürebilme oranlarını dondurma depolama periyodunda önemli seviyede yükseltebilmekte ve ayrıca enkapsüle edilmiş probiyotiklerin ilavesinin prebiyotik bileşen olarak nişasta ilave edilmiş dondurmaların duyuşal özelliklerine olumsuz bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Kim *et al.* (2008) mikroenkapsülasyonun *L. acidophilus* ATCC 43121'in canlılığı ve diğer karakteristiklerine etkisi üzerine yaptıkları araştırmada *L. acidophilus* ATCC 43121'i sodium aljinat kullanarak ekstrüzyon metoduyla mikroenkapsüle etmişlerdir. Mikroenkapsülasyonun, yapay gastrointestinal şartlara maruz bırakılan *L. acidophilus* ATCC 43121'in canlılığı üzerine ve ayrıca ısı uygulamasına maruz bırakılan *L. acidophilus* ATCC 43121'in ısıya duyarlılığı üzerine etkisi çalışılmıştır. Ayrıca serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 43121'in kolesterol asimilasyonu ve intestinal adhezyonu incelenmiş, mikroenkapsülasyonun laktik asit bakterilerinin sağlığa yararları üzerine etkisi ayrıca araştırılmıştır. pH 1,2 ve pH 1,5'lik yapay mide suyuna maruz bırakılan serbest hücreler tamamen tahrip olmuşken enkapsüle hücreler sadece 3 log azalış göstermişlerdir. Model safra suyu ortamına ve ısı muamelesine de enkapsüle hücreler serbest hücrelere kıyasla önemli oranda daha yüksek direnç göstermişlerdir. Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 43121'in kolesterolü düşürme düzeyleri sırasıyla %35,98 ve %32,84'tür. Bununla birlikte enkapsülasyon prosesinin *L.*

acidophilus ATCC 43121'in insan barsak epitel hücrelerine tutunması üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0,05$) bildirilmiştir. Mikroenkapsülasyon, m.o.'ları ısı ve asit uygulamalarından etkili bir şekilde korumuş ve canlı hücrelerin barsaklara taşınması esnasında hücrelerin fonksiyonları üzerine önemli bir olumsuz etki göstermemiştir.

Sun and Griffiths (2000) gellan-ksantan gum ile bifidobakterileri enkapsüle etmişler ve pH 2 ve pH 2,5 olan MMS ortamlarında canlı kalabilme durumlarını incelemişlerdir. pH 2 olan MMS'de serbest ve enkapsüle *B. infantis* ATCC 15697'in canlılıklarının 10^9 kob/g'dan 30 dak sonunda tespit edilemeyen seviyeye ($<10^2$) indiğini, pH 2,5 olan MMS'de ise serbest *B. infantis* ATCC 15697 sayısının 10^9 kob/g'dan 30 dak sonunda tespit edilemeyen seviyeye gelmiş olduğunu bildirmişlerdir. Ancak yine pH 2,5 olan MMS'de enkapsüle *B. infantis* ATCC 15697'in sayısının ise 10^9 kob/g'dan $\sim 10^6$ kob/g'a indiğini bildirmişlerdir. *B. infantis* ATCC 15697'in gellan-ksantan gum ile enkapsülasyonunun, yüksek asitli şartlara bifidobakterilerin toleranslarını arttırdığını, insan ve hayvan sindirim sistemlerinden probiyotik kültürlerin taşınmasında kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Muthukumarasamy *et al.* (2006) en uygun mikroenkapsülasyon metodu ve mayeryalini tespit etmek üzere farklı tip mikrokapsüllerde probiyotik *L. reuteri*'nin model sindirim sistemindeki stabilitesini incelemişlerdir. 5 farklı *L. reuteri* suşu ayrı ayrı aljinat, aljinat + nişasta, karrageenan + locust bean gum, ksantan + gellan kullanılarak ekstrüzyon ve emülsiyon metotlarıyla mikroenkapsüle edilmiştir. Bu mikrokapsüllerin ve serbest *L. reuteri*'nin MMS ortamında pH 1.5'te 2 saat süreyle canlı kalabilme durumları incelenmiştir. Kullanılan mikroenkapsülasyon metodu ve kaplama materyaline bağlı olarak mikrokapsüllerin şekil ve büyüklükleri değişkenlik göstermiş, ekstrüzyonla elde edilmiş mikrokapsüller daha büyük ve üniform yapıda oluşmuştur. Model safra suyunda mikroenkapsüle ve serbest *L. reuteri* suşları denenmiş *L. reuteri*'nin safra tuzlarına dirençli olduğu görülmüştür. Mikroenkapsüle edilmiş *L. reuteri*'nin canlılık düzeyi serbest *L. reuteri*'den önemli derecede yüksek olup, canlılık düzeyi suş, mikroenkapsülasyon metodu ve kullanılan kaplama materyaline göre değişkenlik göstermiştir. Sonuç olarak aljinat ve aljinat + nişastayla hem emülsiyon hem de

ekstrüzyon yöntemi kullanılarak yapılan mikroenkapsülasyon, bakteriler üzerine model mide suyunda önemli derecede ($p<0,05$) koruma sağlamıştır.

Sultana *et al.* (2000) probiyotik bakterilerin aljinat-nişasta ile enkapsülasyonu ve model gastrointestinal şartlarda ve yoğurttaki canlı kalabilme durumlarını incelemişlerdir. Kalsiyum-aljinat ile mikroenkapsülasyonun modifiye edilmiş metodunu uygulayarak yüksek mısır nişastasını prebiyotik olarak kullanmışlardır. Canlı bakterilerin enkapsülasyonunun nişastasız enkapsüle edilmiş bakterilere kıyasla geliştirildiğini, enkapsülasyonun *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp'nin invitro yüksek asit ve safra tuzu şartlarında canlı kalabilme düzeylerinde önemli bir artış meydana getirmediğini bildirmişlerdir. Enkapsüle ve serbest kültürler olarak *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp ilave edilmiş yoğurtlarda 8 haftalık depolama periyodu sonunda, enkapsüle kültürler 0,5 log azalmışken serbest kültürler 1 log azalmıştır. Sonuç olarak *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp içeren yoğurtlarda 8 haftalık depolama sonunda serbest ve enkapsüle kültürlerin sayılarında önemli bir azalma olmadığı görülmüştür.

Krasaekoopt *et al.* (2006) *L. acidophilus* 547, *B. bifidum* ATCC 1994 ve *L. casei* 01 probiyotiklerini mikroenkapsüle etmişler, UHT süttten ve konvansiyonel muameleye tabi süttten ürettikleri stirred tip (pıhtısı kırılmış) yoğurttaki düşük sıcaklıkta depolama esnasında canlı kalabilme durumlarını incelemişlerdir. Probiyotik hücreler, serbest ve mikroenkapsüle hücreler (kitosanla kaplanmış aljinat kapsüllerinde) formunda 3,5 saatlik yoğurt fermentasyonundan sonra UHT ve konvansiyonel süttten üretilen her 2 tip stirred yoğurda ilave edilmiştir. Yoğurtlar 4,1°C'de 4 hafta depolanmıştır. Enkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin canlılık seviyeleri serbest probiyotiklerden yaklaşık 1 log daha yüksek bulunmuştur. Depolama boyunca probiyotik bakterilerin sayısı *B. bifidum* hariç tavsiye edilen terapötik minimum'un (10^7 kob/g) üzerinde olduğu bildirilmiştir. UHT ve konvansiyonel yoğurtlarda probiyotik bakterilerin canlılıklarında önemli bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Süt ve yağsız süt tozu

Yoğurt üretiminde Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Pilot Süt Fabrika'sından temin edilen pastörize edilmiş inek sütü kullanılmıştır. Yağsız süt tozu ise (Pınar Süt ve Mamülleri Sanayii A.Ş) Erzurum piyasasından satın alınmıştır.

3.1.2. Yoğurt kültürleri

Yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanılan *L. delbruckeii* subs. *bulgaricus* ve *S. salivarius* subs. *thermophilus* suşları liyofilize formda Chr Hansen firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Probiyotik kültür

Mikroenkapsülasyona tabi tutulacak suş olan *L. acidophilus* ATCC (American Type Culture Collection) 4356 Microbiologics firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1 Deneme planı

Araştırma serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurt örneklerinden olmak üzere iki farklı muamele ve 0, 7, 14, 21 ve 28 günlük 5 farklı depolama süresi ile iki tekerrürlü olarak 2x2x5 faktöriyel düzende tam şansa bağlı deneme planına göre kurulmuş ve yürütülmüştür.

3.2.2. Probiyotik suş ve geliştirilmesi

L. acidophilus ATCC 4356 suşu öncelikle 9 ml MRS Broth'a inoküle edilmiş ve 37°C'de 18 saat anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 100 ml MRS Broth'a tekrar inoküle edilmiş ve yeniden 37°C'de 18 saat anaerobik inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyondan sonra bakteri hücrelerini toplamak için 6000 rpm'de 4°C'de 10 dak santrifuj edilmiş ve steril peptonlu suyla iki defa yıkanmıştır. Toplanan bakteri hücreleri %0,1 pepton içeren steril peptonlu suya süspansiyon edilerek spektrofotometrede 600 nm'de absorbanı ölçülmüş ve MRS agara (Oxoid) ekim yapılarak gelişme kütresi elde edilmiştir. Böylece daha sonraki inkübasyon sonu sayıları tayin etmek için yaklaşık m.o. sayısı tespit edilmiştir (Adhikari *et al.* 2003). Buna göre *L. acidophilus* ATCC 4356 37°C'de 18 saat anaerobik inkübasyon sonunda $\sim 10^{10}$ kob/g' a çoğaltılmıştır.

3.2.3. Mikroenkapsülasyon

Mikroenkapsülasyon prosesi Muthukumarasamy *et al.* (2006)'nın kullandıkları metodun modifikasyonu ile geliştirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 10 g, $\sim 10^{10}$ kob/g' a çoğaltılmış *L. acidophilus* ATCC 4356 kültür konsantratu %4 sodyum aljinat içeren 50 g steril aljinat solüsyonunda manyetik karıştırıcı kullanılarak immobilize edilmiştir. 250 ml 0.2 M CaCl₂ çözeltisine, aljinatta immobilize edilmiş *L. acidophilus* ATCC 4356, steril 21 G şırınga kullanılmak suretiyle damlacıklar halinde yavaş bir şekilde mikrokapsüllerin oluşumuna imkan verebilecek düzeyde ekstrüde edilmiş ve manyetik karıştırıcı 300 rpm'de karıştırma fonksiyonunu sürdürmüştür. Sodyum aljinat ile CaCl₂ arasında meydana gelen kimyasal reaksiyon sonucu CaCl₂'deki kalsiyum iyonlarıyla sodyum-aljinat arasında bir iyonik çapraz bağlanma ve buna bağlı olarak jelleşme meydana gelmiş ve kalsiyum-aljinat mikrokapsülleri oluşmuştur. Kalsiyum-aljinat mikrokapsülleri 30 dakika CaCl₂ çözeltisinde bekletilmek suretiyle mikrokapsüllerin daha rijit ve sağlam bir form kazanması sağlanmıştır ve daha sonra mikrokapsüller steril saf suyla yıkanmıştır (Ellenton 1998). Kalsiyum-aljinat mikrokapsüllerinin oluşum mekanizmasında, D-mannuronik asit ve L-gluronik asitten

oluşan linear bir heteropolisakkarit olan aljinatın fonksiyonel özellikleri L-gluronik ve D-mannuronik asitin kompozisyonu ve sıklığıyla sıkı bir şekilde ilişkilidir. Ca^{+2} gibi 2 değerlikli katyonlar tercihli olarak L-gluronik asit polimerine bağlanmakta ve çapraz iyonik bağlanma sonucu aljinat 3 boyutlu kafes yapı içerisinde hücrelerin enkapsülasyonunu gerçekleştirmektedir (Krasaekoopt *et al.* 2003). Mikrokapsülleri içeren $CaCl_2$ çözeltisinden mikrokapsüllerin kazanılmasında Whatmann # 4 filtre kullanılmıştır. Mikrokapsüller aynı gün yoğurt üretim prosesinde ve model mide suyu ve model safra suyu ortamlarında kullanılmak üzere 4°C'lik buz dolabı şartlarında steril petri kutusunda muhafaza edilmiştir. Ekstrüzyon tekniği kullanılarak 1,5-2,5 mm arasında değişen boyutlarda elde edilen kalsiyum-aljinat mikrokapsülleri Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Kalsiyum-aljinat mikrokürelerinin görüntüleri

3.2.4. Mikrokapsüllerin açılması ve bakterilerin sayımı

L. acidophilus ATCC 4356 içeren mikrokapsüller Na_2HPO_4 ve NaH_2PO_4 ile pH 7.0'a ayarlı 0.2 M fosfat tamponu kullanılarak yeniden bir iyon değişimi ve sekuesteran etki sağlanarak ayrıca stomacher cihazının mekanik etkiyle kapsülleri degrade edici etkisinden de yararlanılarak kapsüllerin açılması ve bakterilerin serbest kalması sağlanmıştır. Bu amaçla 10 g yoğurt örneği (1g mikrokapsül+9g yoğurt) 90 g fosfat tamponunda stomacher cihazında homojenize edilmiş ve bakterilerin serbest kalması sağlanmış, seri dilüsyonlar oluşturulmak suretiyle safra tuzu katkılı MRS agarda sayımlar yapılmıştır. MMS ve MSS ortamlarından enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın sayımlarında ise mikrokapsüller Whatmann #4 filtreden süzülerek geri kazanılmış ve 1 g mikrokapsül 9 g fosfat tamponunda vorteksenerek bakterilerin serbest kalması sağlanmıştır (Ellenton 1998).

3.2.5. Mikroenkapsüle ve serbest bakterileri içeren yoğurtların üretimi ve depolanması

%2 yağ içeren pastörize edilmiş inek sütünün kuru maddesi yağsız süt tozuyla ayarlanmış ve sıcaklığı 43°C'ye getirilerek ticari yoğurt kültürüyle inoküle edilmiş ve 50 ml'lik steril plastik tüplere 9'ar g dökülerek pH 4.6'ya düşünceye kadar tüplerde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yoğurtlar 4°C'de 12 saat buz dolabında tutulmuş ve daha sonra tüplere 1'er g serbest/mikroenkapsüle edilmiş bakteriler ilave edilmiştir. Serbest/mikroenkapsüle bakterileri içeren yoğurtlar 28 gün süreyle 4°C'de depolamaya tabi tutulmuş 0, 7, 14, 21 ve 28 gün sonunda *L. acidophilus* ATCC 4356 sayımları daha önce belirtildiği üzere gerçekleştirilmiş, depolamanın serbest ve mikroenkapsüle bakterilerin canlılıkları üzerine etkisi araştırılmıştır.

3.2.6. Model mide suyu (MMS) ortamında *L. acidophilus* ATCC 4356'nin canlılığının incelenmesi

MMS dizaynında pH 1,5'e ayarlanmış %0,2 NaCl içeren 0,08 N HCl çözeltisi kullanılmıştır (Sun and Griffiths 2000). Sıcaklığı daha önce 37°C'ye getirilen 9 g MMS'ye 1 g mikrokapsül ya da serbest bakteriler ilave edilmiş ve 120 dak boyunca 37°C sıcaklıktaki inkübatörde tutulmuş, belirli aralıklarla vortekslenerek gerçek mide koşulları sağlanmaya çalışılmıştır. Yine bu süreçte 0, 30, 60 ve 120 dak sonunda sayımlar yapılmış ve zamana bağlı olarak mikrokapsüle ve serbest bakterilerin canlılığını sürdürülebilirlikleri araştırılmıştır.

3.2.7. Model safra suyu (MSS) ortamında *L. acidophilus* ATCC 4356'nin canlılığının incelenmesi

MSS ortamı dizaynı Song *et al.* (2003)' e göre yapılmış, %1,2 safra tuzu içeren önceden sıcaklığı 37°C'ye getirilmiş MRS Broth kullanılarak 6 saatlik süre zarfında gerçekleştirilmiştir. 9 g MSS'ye 1 g mikrokapsüle edilmiş/serbest formda *L. acidophilus* ATCC 4356 ilave edilmiş, 6 saat sonunda sayımlar yapılmış, mikrokapsüle ve serbest *L. acidophilus* ATCC 4356'nin MSS ortamındaki canlılıkları araştırılmıştır.

3.2.8. Depolama periyodunda yoğurt örneklerinden *L. acidophilus* ATCC 4356'nin selektif sayımı

Yoğurtların depolama periyodunda *L. acidophilus* ATCC 4356'nin sayımında 0,45 µm steril filtreden süzölmüş %0,2 safra tuzu (Fluka) içeren MRS agar (Oxoid) kullanılmıştır (Lima *et al.* 2009). Yayma kültür yöntemiyle uygun dilüsyonlardan 0,1'er ml çift petri plağına ilave edilmiş ve steril drigalski spatülü ile yayılmıştır. Bu sayede safra tuzuna dirençli olmayan yoğurt kültürlerinin gelişimi inhibe edilmiş ve sadece *L. acidophilus* ATCC 4356'nin gelişimi için selektif ortam sağlanmıştır. Petri plakları, Anaerocult A (Merck) ile birlikte anaerobik jarlara (Merck) konularak oluşturulan

anaerobik şartlarda 37°C'de 72 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası oluşan koloniler sayılmıştır.

3.2.9. Maya ve Küf sayımı

Potato Dextrose agar (PDA) (Merck) sterilize edildikten sonra %10'luk steril laktik asit çözeltilisi kullanılarak asitlendirilmiş (pH 3,5±0,1) ve petrilere dökülmüştür. Petriler katılaştıktan sonra uygun dilüsyonlardan ekim yapılarak 25°C'de 5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonda üçten fazla petri istiflemesi yapılmamış ve petriler hareket ettirilmemiştir.

3.2.10. Koliform sayımı

Violet Red Bile agar (VRB) kaynatıldıktan sonra uygun dilüsyonlardan petrilere dökme yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonda üçten fazla petri istiflemesi yapılmamış ve petriler hareket ettirilmemiştir.

3.2.11. pH analizi

pH ölçümü hazırlanan homojenizatlara problemlerin daldırılması ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla dijital pH metre (Hanna Instruments pH Meter 211 microprocessor pH meter) kullanımdan önce pH 4 ve pH 7 tamponları ile kalibre edilmiştir.

3.2.12. Duyusal analiz

Serbest ve enkapsüle bakterileri içeren yoğurtlar eğitimli on panelist tarafından duyuşal olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede kullanılan duyuşal panel formu aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneme yoğurtlara ait duyuşal analiz formu

Örnek No:									
Görünüm ve Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Yapı ve Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tat	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Genel Kabul	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1:Çok kötü									
9:Mükemmel									
6:Tatmin edici									

3.2.13. İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen veriler SPSS 13 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Serbest ve Enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın Depolama Süresince Yoğurtlardaki Gelişimi ve Yoğurtların pH Değişimleri

Yoğurt üretiminden sonra yapılan (0. gün) sayımlarda serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 sayıları sırasıyla 9,48 ve 8,26 log kob/g ve iken depolama sonunda sırasıyla 8,56 ve 7,16 log kob/g'a düştüğü gözlemlenmiştir. Bakteri sayısındaki bu azalışın yoğurta depolama boyunca oluşan laktik asit ve asetik asitin bakterisidal aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Deneme yoğurtların depolama periyotlarında pH'larındaki değişim her iki tip yoğurta da benzerlik göstermiş olup depolama başlangıcında (0. gün) 4,54 olup depolama sonunda (28. gün) 4,37'ye düştüğü gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Serbest ve mikroenkapsüle edilmiş *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarda depolama periyodunda yapılan sayımlar (log kob/g) ve pH değerleri

Yoğurt Örnekleri	Depolama(gün)	Canlı m.o. sayısı log kob/g		pH değerleri	
		1.Tekerrür	2.Tekerrür	1.Tekerrür	2.Tekerrür
Serbest	0	9,49	9.46	4,55	4,54
	7	8,69	8.67	4,66	4,52
	14	8,59	8.38	4,43	4,44
	21	8,8	8.63	4,35	4,25
	28	8,59	8.53	4,38	4,37
Mikroenkapsüle	0	8,27	8.25	4,55	4,53
	7	7,92	7.74	4,48	4,55
	14	7,6	7.47	4,39	4,35
	21	7,55	7.3	4,37	4,39
	28	7,21	7.11	4,38	4,39

Deneme yoğurt örneklerine ait depolama periyodunda elde edilen *L. acidophilus* ATCC 4356 sayıları (log kob/g) Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Deneme Yoğurt Örneklerine ait *L. acidophilus* ATCC 4356 sayıları (log kob/g)

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	0	7	14	21	28
Serbest	9,47±0,021	8,68±0,014	8,48±0,148	8,71±0,120	8,56±0,042
Mikroenkapsüle	8,26±0,014	7,83 ±0,127	7,53±0,091	7,42±0,176	7,16±0,071

Depolama periyodu boyunca deneme yoğurt örneklerinin pH değerleri Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Deneme Yoğurt Örneklerine ait pH Değerleri

Yoğurt Örnekleri	Depolama Süresi (Gün)				
	0	7	14	21	28
Serbest	4,54±0,007	4,59±0,098	4,43±0,007	4,30±0,070	4,37±0,007
Mikroenkapsüle	4,54±0,014	4,51±0,049	4,37±0,028	4,38±0,014	4,38±0,007

Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren deneme yoğurtlara ait depolama periyodunda *L. acidophilus* ATCC 4356 sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Serbest ve enkapsüle edilmiş bakterileri içeren yoğurtların depolanmasında canlı m.o. oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları

Ana Varyasyon Kaynakları	SD	Canlı m.o. Oranı		
		KO	F	
Bakteri (B)***	1	0,159	0,154	
Depolama (D)	4	79,59	77,18	**
BxD	4	7,61	7,38	**
Hata	10	1,03		

(*) $p < 0,05$ Düzeyinde önemli

(**) $p < 0,01$ Düzeyinde önemli

(***) Bakteri serbest ve enkapsüle m.o.'ları ifade etmektedir.

Bakterilerin enkapsüle edilip edilmemesinin canlı m.o. oranına etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarda, depolamanın, bakterilerin canlılık oranları üzerine çok önemli etki ettiği tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

Bakteri x depolama süresi interaksiyonunun da canlı m.o. oranı üzerine etkisi istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$).

Deneme yoğurtların depolanması esnasında belirlenen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Yoğurtların depolanmaları sırasında belirlenen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına(%) ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Mikroorganizma	N	Canlı m.o. Oranı		
		Ortalama	Standart Sapma	
Enkapsüle	10	92,51	± 4,88	a
Serbest	10	92,69	± 4,00	a

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$)

Buna göre göre serbest *L. acidophilus* ATCC 4356 depolama periyodunda ortalama %92,69 oranında canlılığını sürdürebilmişken enkapsüle *L.acidophilus* ATCC 4356 ortalama %92,51 oranında canlı kalabilmiştir. Serbest ve enkapsüle *L.acidophilus* ATCC 4356'nın canlı kalabilme oranları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Benzer sonuçlar Sultana *et al.* (2000) tarafından da bulunmuş olup 4 haftalık depolama sonunda serbest *L. acidophilus* 2401 sayısında yaklaşık 0,75 log azalış olmuşken enkapsüle *L. acidophilus* 2401 sayısında ise yaklaşık 0,57 log azalış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar bu tez çalışmasının bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Deneme yoğurtlardan depolama periyodunda belirlenen canlı m.o. oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

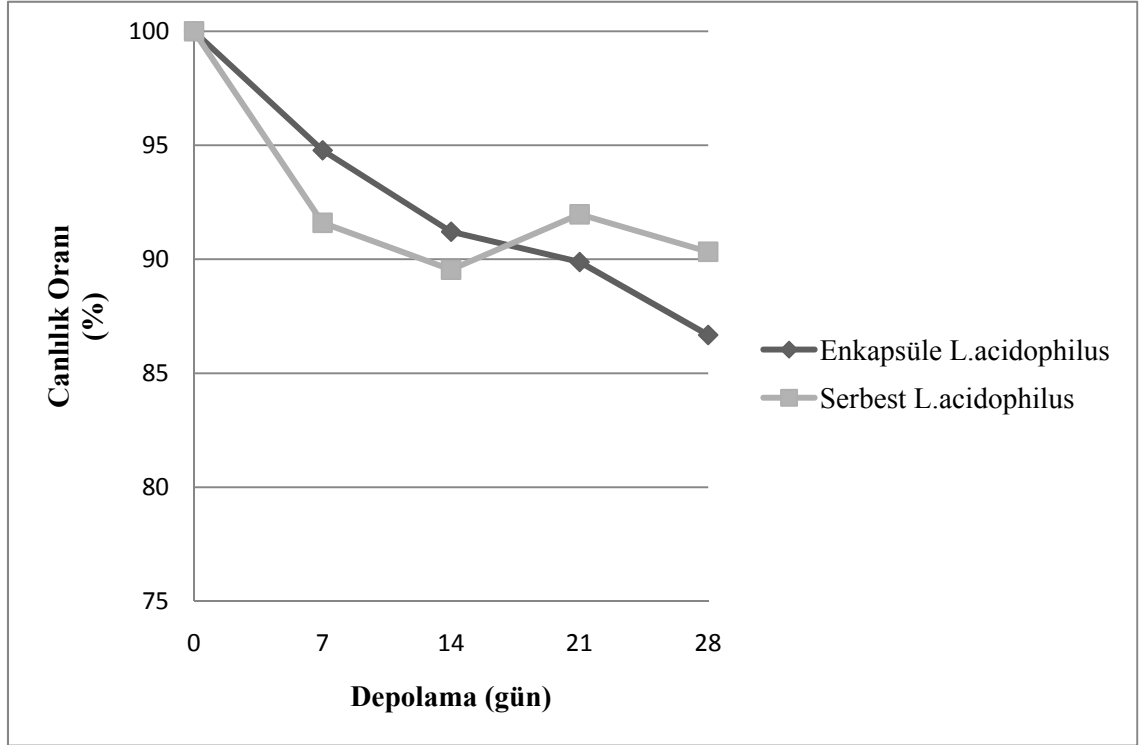
Çizelge 4.6. Depolama periyodunda belirlenen canlı m.o. oranlarına (%) ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Depolama	N	Canlı m.o. Oranı		
		Ortalama	Standart Sapma	
0.gün	4	100	± 0,00	a
7.gün	4	93,20	± 2,00	b
14.gün	4	90,93	± 1,36	c
21.gün	4	90,38	± 1,77	c
28.gün	4	88,51	± 2,15	d

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Buna göre her iki tip yoğurt esas alındığında depolamanın 14. ve 21. günleri hariç diğer günlerde canlı m.o. oranlarındaki değişim istatistiki olarak önemli görülmüştür ($p<0,05$).

Deneme yoğurtlarda *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık oranı (%) üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Deneme yoğurtlarda *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık oranı üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi

Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtların depolama periyodunda pH değerlerine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Serbest ve enkapsüle edilmiş *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtların depolama periyodunda pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	pH Değeri		
		KO	F	
Bakteri (B)	1	0,001	0,324	
Depolama (D)	4	0,038	20,433	**
BxD	4	0,004	2,114	
Hata	10	0,002		

(**) P < 0,01 Düzeyinde önemli

Buna göre bakterilerin serbest ya da enkapsüle edilmiş olması depolama periyodunda yoğurtların pH değerlerinde anlamlı bir değişime yol açmamıştır ($p < 0,05$). Depolamanın ise deneme yoğurtların pH değerlerine ekisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Bakteri x Depolama interaksiyonunun ise depolama periyodunda yoğurtların pH değerlerinde önemli bir etkiye yol açmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).

Serbest/enkapsüle bakterileri içeren yoğurtların depolanmasında belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Serbest ve enkapsüle bakterileri içeren yoğurtların depolanmasında belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Bakteri	N	pH Değeri		
		Ortalama	Standart Sapma	
Enkapsüle	10	4,44	± 0,08	a
Serbest	10	4,45	± 0,12	a

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$)

Bakterilerin enkapsüle ya da serbest formda olmaları deneme yoğurtların pH değerleri üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Deneme yoğurtların depolama sürecindeki pH değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.9.'da verilmiştir.

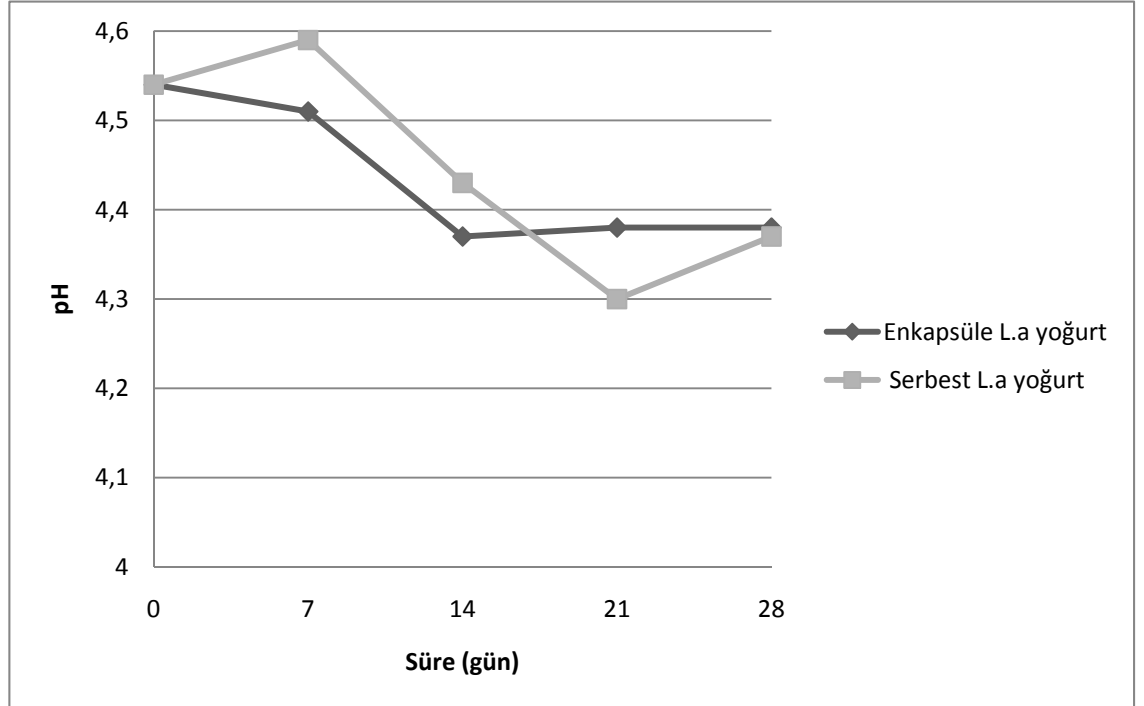
Çizelge 4.9. Deneme Yoğurtlara ait pH değerlerinin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Depolama	N	pH değerleri		
		pH	Standart Sapma	
0.gün	4	4,54	± 0,01	a
7.gün	4	4,55	± 0,07	a
14.gün	4	4,40	± 0,04	b
21.gün	4	4,34	± 0,06	b
28.gün	4	4,38	± 0,01	b

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır($p<0,05$)

Buna göre depolamanın 0. ve 7. günlerinde pH değişimi istatistiki olarak anlamsız bulunmuş olup ($p>0,05$) 0. ve 7. günlerle 14. 21. ve 28. günler arasındaki pH değişimleri istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur($p<0,05$).

Deneme yoğurt örneklerinin pH değerleri üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form etkisinin etkisine ait grafik Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Deneme yoğurtların pH değerleri üzerine depolama süresi x serbest/enkapsüle form etkisinin etkisi

Krasaekoopt *et al.* (2006)'da benzer sonuçlar bulmuşlardır. Araştırmacılar enkapsüle ve serbest *L. acidophilus* içeren yoğurtların 0. gün eşit olan % asitliklerinin 4 haftalık depolama periyodu sonunda da eşit olduklarını bildirmişler ve bizim elde ettiğimiz verilerle paralel sonuçlar bulmuşlardır.

4.2. Model Mide Suyu (MMS) ve Model Safra Suyu (MSS) Ortamlarında İnkübe Edilen Serbest ve Enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın Canlılığındaki Değişim

Model Mide Suyu(MMS) ve Model Safra Suyu(MSS) ortamlarında serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın zamana bağlı canlı sayıları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. MMS ve MSS Ortamlarında Serbest ve Enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 sayıları (log kob/g)

	MMS Ortamı			MSS Ortamı		
	Zaman (dak)	Canlı m.o Sayısı log kob/g		Zaman (dak)	Canlı m.o Sayısı log kob/g	
		1.Tekerrür	2.Tekerrür		1.Tekerrür	2.Tekerrür
Serbest	0	9,02	9,01	0	9,04	9,12
	30	2,77	2,78			
	60	<100	<100	240	8,96	9,02
	120	<100	<100			
Mikroenkapsüle	0	8,27	8,24	0	8,27	8,24
	30	8,07	8,01			
	60	6,47	6,3	240	8,25	8,23
	120	5,47	4,69			

MMS Ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. MMS Ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Canlı m.o. Oranı		
		KO	F	
Bakteri (B)	1	10561,16	1909,38	**
Model Mide Suyunda İnkübasyon Süresi (MMSİS)	3	3887,60	702,85	**
BxMMSİS	3	1216,85	219,99	**
Hata	8	5,53		

(*) P < 0,05 Düzeyinde önemli

(**) P < 0,01 Düzeyinde önemli

Bakterilerin enakpsüle ya da serbest formda olması MMS ortamında bakterilerin canlılık oranları üzerine çok önemli etkide bulunduğu tespit edilmiş olup enkapsülasyon işleminin MMS ortamında bakterilerin canlılıklarını çok daha iyi muhafaza ettiği tespit edilmiştir (p<0,01). MMSİS’nin m.o.’ların canlılıkları üzerine etkisi istatistiki olarak çok önemli bulunmuştur (p<0,01). B x MMSİS interaksyonunun da m.o.’ların canlı kalabilmeleri üzerine çok önemli etkide bulunduğu tespit edilmiştir (p<0,01).

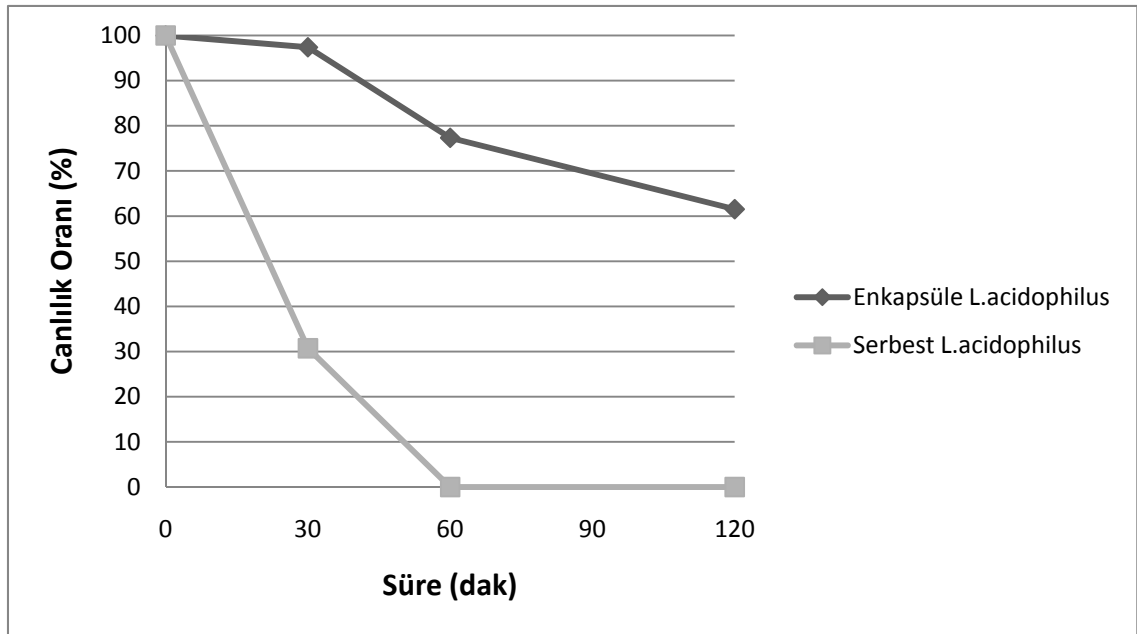
MMS ortamında serbest ve enkapsüle *L.acidophilus* ATCC 4356’nın canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. MMS ortamında serbest ve enkapsüle bakterilerin canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Bakteri	N	Canlı m.o. Oranı (%)		
		Ortalama	Standart Sapma	
Enkapsüle	8	84,06	± 16,96	a
Serbest	8	32,68	± 43,66	b

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır(p<0,01)

MMS ortamında *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık oranları üzerine MMSİS x serbest/enkapsüle form interaksiyonunu gösteren grafik Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. MMS ortamında *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık oranları üzerine MMSİS x serbest/enkapsüle form interaksiyonunun etkisi

Grafikten de görüldüğü üzere MMS ortamında serbest *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık oranı 30. dak sonunda %30'a düşmüşken 60. dak'da tespit edilebilir düzey olan 10^2 kob/g'ın da altına inmiştir. Enkapsüle *L. acidophilus* ise 30. dak sonunda canlılık düzeyini %97,4 oranında devam ettirmiş, 60. dak sonunda %77,34 oranında canlılığını sürdürebilmiş, 120 dak sonunda ise %61,52 oranında canlı kalabilmiştir. Mikroenkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın MMS ortamında canlı kalabilme oranı serbest *L. acidophilus* ATCC 4356'dan çok önemli seviyede (p<0,01) daha yüksektir.

Kim *et al.* (2008) ve Mandal *et al.* (2006) tarafından da benzer sonuçlar bildirilmiştir.

Kim *et al.* (2008) aljinat mikroküreleri ile enkapsülasyonun *L. acidophilus* ATCC 43121'in canlılık düzeyini yapay mide suyu ortamında oldukça başarılı bir şekilde geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Mandal *et al.* (2006) %4 konsantrasyonunda aljinatla enkapsüle ettikleri *L. casei* NCDC-298'i pH=1,5 olan MMS ortamında 3 saat inkübasyon sonunda enkapsüle *L. casei* NCDC-298'in canlılığını serbest *L. casei* NCDC-298'den önemli seviyede ($p<0,05$) yüksek bulmuşlardır.

Muthukumaramasamy *et al.* (2006) aljinatla hem emülsiyon hem de ekstrüzyon yöntemleriyle enkapsülasyonun *L. reuteri*'yi mide suyunda serbest formuna göre çok daha iyi muhafaza ettiğini bildirmişlerdir.

Chandramouli *et al.* (2004) pH 2,0'da aljinatla enkapsüle edilmiş *L. acidophilus*'un canlılığının önemli biçimde arttığını bildirmişlerdir.

Krasaekoopt *et al.* (2004) aljinat kürelerinde mikroenkapsüle edilmiş *L. acidophilus*'un model mide suyu ve model safra sularındaki ardışık inkübasyonlarında canlı kalma düzeylerinin iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Yine yüksek canlılık düzeyi, aljinat kürelerinde immobilize edilmiş laktobasiller model mide suyunda inkübe edildiğinde de bildirilmiştir (Lee *et al.* 2004; Le-Tien *et al.* 2004).

Sabihki *et al.* (2010) sodium aljinatla mikroenkapsülasyon tekniğinin *L. acidophilus* LA1 probiyotik suşunu olağan dışı proses koşullarından (yüksek sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük pH gibi) ve model gastrointestinal şartlardan etkili bir şekilde koruduğunu bildirmişlerdir.

Enkapsülasyon prosesi *L. acidophilus* ATCC 4356'yı MMS ortamında oldukça yüksek seviyede korumuştur. pH=1,5 olan MMS ortamında 2 saat sonunda 10^5 kob/g seviyesinde canlı kalabilmiş, terapötik minimum olan 10^6 kob/g'a yaklaşmıştır.

MSS ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.13'te verilmiştir. Bakterilerin serbest ya da enkapsüle olup olmaması MSS ortamında bakterilerin canlılık oranları üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca MSSİS'nin ve B x MSSİS interaksiyonunun da canlı m.o. oranı üzerine etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Çizelge 4.13. MSS ortamında inkübe edilen serbest ve enkapsüle bakterilerin canlılık oranlarına (%) ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Canlı m.o. Oranı		
		KO	F	
Bakteri (B)	1	0,53	2,51	
Model Safra Suyunda İnkübasyon Süresi (MSSİS)	1	0,71	3,89	
BxMSSİS	1	0,53	2,51	
Hata	4	0,213		

(**) P < 0,01 Düzeyinde önemli

(*) P < 0,05 Düzeyinde önemli

MSS Ortamında serbest ve enkapsüle bakterilerin canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. MSS ortamında serbest ve enkapsüle m.o.'ların canlılık oranlarına ait ortalamalar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.14. MSS ortamında serbest ve enkapsüle bakterilerin canlı kalma oranlarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Bakteri	N	Canlı m.o. Oranı(%)	
		Ortalama	Standart Sapma
Enkapsüle	4	99,96	± 0,05 a
Serbest	4	99,44	± 0,65 a

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01)

MSS ortamında 240 dak inkübasyon sonunda *L. acidophilus* ATCC 4356 suşunun canlılık düzeyinde önemli bir değişme olmamıştır. Bu sonuç *L. acidophilus* ATCC 4356'nın MSS ortamında yer alan %1,2 konsantrasyonlu safra tuzuna direnç gösterdiği şeklinde düşünülmektedir. Safra tuzuna direnç *L. acidophilus* ATCC 4356 suşunun karakteristik özelliği olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Benzer sonuçlar Muthukamarasamy *et al.* (2006) tarafından da bulunmuştur. Araştırmacılar 5 farklı serbest ve enkapsüle *L. reuteri* suşunun model safra suyu ortamında canlılık düzeylerinde değişme olmadığını, *L. reuteri*'nin %1,2'lik safra tuzuna dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Mandal *et al.* (2008) ise enkapsüle *L. casei* NCDC-298'in MSS ortamında serbest *L. casei* NCDC-298'ye göre canlılığını daha iyi koruduğunu bildirmişlerdir.

4.3. Deneme Yoğurt Örneklerinde Koliform Grubu Bakterilerin Gelişimi

Deneme yoğurtların depolama periyodunda yapılan koliform grubu bakterilere ait sayımlarında herhangi bir gelişime rastlanılamamış olup tespit edilebilir düzey 10^1 kob/g'dır. Deneme yoğurtlarda koliform grubu bakterilerin tespit edilememesinde (<10) steril malzeme kullanılmış olması ve üretim prosesinde hijyenik şartlara dikkat edilmiş olmasından kaynaklandığı şeklinde düşünülmektedir.

4.4. Deneme Yoğurt Örneklerinde Maya-Küf Gelişimi

Deneme yoğurtların depolama periyodunda yapılan maya-küf sayımlarında herhangi bir gelişme gözlenememiş olup tespit edilebilir düzey 10^2 kob/g'dır. Deneme yoğurtlarda maya-küf gelişimi gözlenememesi, yoğurt üretim prosesinde hijyenik şartlara riayet edildiğini göstermektedir.

4.5. Duyusal Analiz

Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren ayrıca kontrol grubu yoğurtlara ait duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Serbest,enkapsüle ve kontrol yoğurtlara ait duyusal analiz sonuçları

Yoğurt Örneği	G.R.*	Y.T. **	Tat	Koku	G.K. ***
Enkapsüle	6±1,33	4,7±1,57	5,8±1,47	6,8±0,92	5,65±1,56
Serbest	6,5±1,43	5,6±1,51	6,1±2,08	6,5±0,85	6,2±1,47
Kontrol	7,2±0,79	6,6±0,97	7±1,15	6,4±1,65	6,9±0,99

*Görünüm ve Renk

**Yapı ve Tekstür

***Genel Kabul Edilebilirlik

Deneme yoğurtların duyusal analiz puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16'te verildiği üzere serbest, enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren ve kontrol yoğurtların sadece yapı ve tekstür olarak önemli seviyede ($p<0,05$) farklılık arz ettiği görülmektedir. G.R., Y.T., Tat, Koku ve G.K. gibi diğer parametrelerdeki fark ise istatistiki olarak önemsiz düzeydedir ($p>0,05$).

Çizelge 4.16. Deneme yoğurtların duyuusal analiz puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Görünüm ve Renk			Yapı ve Tekstür		
	SD	KO	F	SD	KO	F
Yoğurt Örnekleri	2	3,63	2,45	2	9,03	4,79*

*p<0,05 seviyesinde önemli

Çizelge 4.16. (devam)

Varyasyon Kaynakları	Tat			Koku			Genel Kabul		
	SD	KO	F	SD	KO	F	SD	KO	F
Yoğurt Örnekleri	2	3,9	1,49	2	0,43	0,30	2	3,92	2,09

*p<0,05 seviyesinde önemli

Deneme yoğurt örneklerinin yapı ve tekstürdeğerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Deneme yoğurtların yapı ve tekstür değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Deneme yoğurtlar	N	Yapı ve Tekstür		
		Ortalama	Standart Sapma	
Enkapsüle	10	4,70	± 1,57	b
Serbest	10	5,60	± 1,51	ab
Kontrol	10	6,60	± 0,97	a

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır(p<0,05)

Deneme yoğurtlarda yapılan duyuusal analiz sonuçlarına göre yapı ve tekstür bakımından en düşük puanı enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurt örnekleri almış olup kontrol yoğurtları en yüksek puanı almıştır. Enkapsüle ve kontrol yoğurtları arasındaki yapı ve tekstür farkı istatistiki olarak önemli (p<0,05) bulunmuş olup serbest *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarla kontrol grubu yoğurtları arasında istatistiki

bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Ayrıca serbest ve enkapsüle bakterileri içeren yoğurtların yapı ve tekstür olarak aralarında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p>0,05$).

Deneme yoğurtların genel kabul edilebilirlik (G.K.) değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Deneme yoğurtların genel kabul edilebilirlik (G.K.) değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Deneme yoğurtlar	N	Genel Kabul Edilebilirlik		
		Ortalama	Standart Sapma	
Enkapsüle	10	5,65	± 1,56	a
Serbest	10	6,20	± 1,47	a
Kontrol	10	6,90	± 0,99	a

Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır($p<0,05$)

Kontrol, serbest ve enkapsüle bakterileri içeren yoğurtların genel kabul edilebilirlik düzeylerinde en yüksek puanı kontrol grubu yoğurtlar olmuş olup 3 tip yoğurdun G.K. puanlarında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmada probiyotik *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 suşu %4 konsantrasyonlu sodyum aljinat süspansiyonunda mikroenkapsüle edilerek yoğurda ilave edilmiş, serbest/enkapsüle bakterileri içeren yoğurtlar 4°C'de 28 gün depolanmıştır. Depolamada belirli aralıklarla mikrobiyolojik analizler ve pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca deneme yoğurtlar duyuşal açıdan da analize tabi tutulmuştur. Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonla sağlığa yararlı etkilerinin artırılması amacıyla mikroenkapsüle/serbest formdaki *L. acidophilus* ATCC 4356 suşu model mide suyu ve model safra suyu ortamlarında belirli sürelerle inkübasyona tabi tutulmuş, kalsiyum-aljinat mikroküreleriyle enkapsülasyonun bu stres ortamlarından probiyotik *L. acidophilus* ATCC 4356 suşunu koruyucu etkisi incelenmiştir. Yapılan araştırmalara ait verilere dayanılarak aşağıdaki sonuç ve öneriler çıkarılmıştır.

1. *Lactobacillus acidophilus* probiyotik özelliğinden en fazla yararlanılan m.o.'lar arasında ön sıralarda yer almakta ve popülerliğini sürdürmektedir. Serbest/enkapsüle formda *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtların depolama sonunda bakteri sayılarında istatistiki olarak anlamlı seviyede azalışlar meydana gelmiştir. Ancak serbest ve enkapsüle bakteri sayıları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Enkapsülasyon işemi *L. acidophilus* ATCC 4356 probiyotik suşunu ürün depolama periyodunda etkili bir şekilde koruyamamış bu da üründe zamanla oluşan laktik ve asetik asitin aljinat mikrokürelerinin içerisine diffüze olmasından ileri geldiği şeklinde yorumlanmıştır.

2. Yoğurtların 28 günlük depolanması esnasında, serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 sayılarının 10^7 kob/g'ın altına düşmemiş olması terapötik minimum olan 10^6 - 10^7 kob/g'dan daha yüksek olduğunu göstermiş ve sağlığa yararlı etkiler gösterebilecek seviyede canlılığını sürdürebildiğini kanıtlamıştır.

3. Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarda 28 günlük

depolama periyodu sonunda, pH düşüşleri istatistiki olarak önemli seviyede gerçekleşmiş, ancak her iki tip yoğurtta da pH düşüşleri benzer bir seyir izlemiş ve depolama sonunda pH'lar aynı düzeye gelmiştir. Enkapsülasyon işleminin depolama esnasında yoğurtların pH değerinde istatistiki bir etkisi olmamıştır.

4. Serbest ve enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtlarda depolama periyodunda belirli aralıklarla yapılan sayımlarda koliform grubu bakterilere rastlanmamış ($<10^1$ kob/g), maya-küf tespit edilememiştir ($<10^2$ kob/g). Koliform grubu bakteriler ve maya-küf gelişiminin olmaması arzu edilen bir durum olup hijyen ve sanitasyon riayet edildiğinin göstergesidir.

5. *L. acidophilus* ATCC 4356 probiyotik suşunun %4 konsantrasyonlu sodyum aljinat süspansiyonunda ekstrüzyon yöntemiyle mikroenkapsülasyon işlemi, oluşturulan model mide suyu ortamında bu suşun canlılığını serbest formuna kıyasla çok önemli seviyede daha fazla koruyabilmiştir. Zira serbest *L. acidophilus* ATCC 4356 hücreleri model mide suyu ortamındaki inkübasyon sonunda canlı kalamamıştır. Kalsiyum-aljinat mikrokürelerinde immobilizasyon, probiyotik m.o'ları oldukça düşük pH değerlerinde etkili bir şekilde koruyabilmiş, probiyotik m.o'ların mikroenkapsülasyonla mide asitliğinden çok daha az kayıpla hedef bölge olan barsaklara taşınmasında etkili ve uygulanabilir olduğunu kanıtlamıştır.

6. Oluşturulan model safra suyu ortamında serbest/enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356'nın canlılık düzeyinde istatistiki olarak anlamlı bir azalma meydana gelmemiş, bu sonuç model safra suyunda yer alan %0,2 konsantrasyonunda safra tuzuna suşun karakteristik özelliği olarak direnç gösterdiğinden kaynaklanmıştır.

7. Deneme yoğurtların duyu analizi sonucunda enkapsüle *L. acidophilus* ATCC 4356 içeren yoğurtların yapı ve tekstürünün geliştirilmesi ihtiyacı doğmuştur. Enkapsüle edilen probiyotik bakterileri içeren bio-yoğurtların üretim prosesinde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

8. Deneme yoğurtların duysal olarak genel kabul edilebilirlik düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark yoktur. Probiyotik bakterilerin mikroenkapsüle edilerek yoğurda ilave edilmesinin tüketicilerin genel kabullerinde olumsuz bir izlenim bırakmamış olması, sanayii ölçeğinde mikroenkapsülasyonun uygulanabileceğine olan ümitleri arttırmaktadır.

9. Yukarıda yapılan değerlendirmeler ışığında fermente bir süt ürünü olan ve ülkemizde fazla miktarda tüketilen yoğurda, sodyum aljinat ile mikroenkapsüle edilmiş *L. acidophilus* ATCC 4356 probiyotik suşunun ilave edilmesi, bu suşun model mide suyu ortamından serbest formuna kıyasla çok daha az kayıpla geçip faydalı etkiyi gösterebileceği hedef bölge olan barsaklara kadar 10^5 gibi oldukça iyi sayılarda ulaşması, ve zaten bu suşun karakteristik özelliği olarak safraya direnç göstermesi, probiyotik etkinin insan vücuduna transfer edilmesinde çok etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adhikari, K., Mustapha A. and Grün I.U., 2003. Survival and Metabolic Activity of Microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Stirred Yogurt. *Journal of Food Science*, 68(1), 275-280
- Adhikari, K., Mustapha A., Grün I.U. and Fernando L., 2000. Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. *J Dairy Sci*, 83(9), 1946-1951.
- Anonymous 1992. Yoghurt and probiotics. *Choice*, 32(11), 32–35.
- Audet, P., Paquin C. and Lacroix C., 1989. Sugar utilization and acid production by free and entrapped cells of *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, and *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* in a whey permeate medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(1), 185–189.
- Buck, L.M. and Gilliland S.E. 1994. Comparisons of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal for ability to assimilate cholesterol during growth. *Journal of Dairy Science*, 77(10), 2925–2928.
- Chandramouli V, Kalasapathy K, Peiris P, Jones M., 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *J Microbiol Meth.* 56, 27-35.
- Collins, M.A., 1985. Effects of pH and acidulate type on the survival of some food poisoning bacteria in mayonnaise. *Microbiologie - Aliments - Nutrition* 3, 215-221.
- Çakır, İ., 2006. Mikroenkapsülasyon Tekniginin Probiyotik Gıda Üretiminde Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26 Mayıs, Poster Bildiriler Kongre Kitabı, 693-696.
- Dave, R.I. and Shah N.P., 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7(1), 31–41.
- Dimantov, A., Greenberg M., Kesselman E, Shimoni E., 2004. Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model systems. *Innov. Food Sci Eng Technol.* 5, 93-100.
- Dinakar, P. and Mistry V.V., 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. *J Dairy Sci*, 77(10), 2854-2864.
- Ding, W.K. and Shah N.P., 2007. Acid, Bile and Heat Tolerance of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria. *Journal of Food Science*, 72(9), 446-450.
- Ellenton, J.C., 1998. Cellular Morphology of Bifidobacteria and Their Survival When Encapsulated in Calcium Alginate Beads, MS Thesis, The Faculty of Graduate Studies of the University of Guelph, Canada.
- FAO/WHO (Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization), 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Working Group Report. London, Ontario, Canada.
- Fuller, R., 1992. Probiotics: the scientific basis. London: Chapman & Hall.
- Fuller, R., 1997. Probiotics 2—applications and practical aspects. London: Chapman & Hall.
- Gardini F., Lanciotti R., Guerzoni M.E. and Torriani S., 1999. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus*

- delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. *International Dairy Journal*, 9(2), 125–134.
- Gibson, G. R. and Fuller, R. (1998). The role of probiotics and prebiotics in the functional food concept. In M. J. Sadler, & M. Saltmarsh (Eds.), *Functional foods: The consumer, the products and the evidence*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 3–14.
- Gilliland, S.E. and Speck M.L. 1977. Instability of *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 60(9), 1394–1398.
- Gilliland, S.E., 1989. Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumers. *Journal of Dairy Science*, 72(10), 2483–2494.
- Gomes, A.M.P. and Malcata, F.X., 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol*, 10(4-5), 139-157.
- Gorbac, S.L., 2002. Probiotics in the third millennium. *Digestive and Liver Disease*, 34, 52-57.
- Gouin, S., 2004. Microencapsulation-industrial appraisal of existing technologies and trend. *Trends Food Sci Technol*. 15, 330-347.
- Hansen, L.T., Allan-Wojtas P.M., Jin Y.L. and Paulson A.T., 2002. Survival of Calcium alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19, 35–45.
- Heidebach, T., Först P. and Kulozik U., 2009a. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 23, 1670–1677.
- Heidebach, T., Först P. and Kulozik U., 2009b. Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. *International Dairy Journal*, 19, 77–84.
- Hekmat, S. and McMahon D.J., 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as probiotic food. *Journal of Dairy Science*, 75(6), 1415–1422.
- Holcomb, J.E., Frank J.F. and McGregor J.U., 1991. Viability of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in soft serve frozen yoghurt. *Cultured Dairy Product Journal*, 26(3), 4–5.
- Holley, R.A. and Muthukumarasamy P., 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 164–169.
- Holzapfel, H.W., Haberer P., Snel J. and Schillinger U., 1998. Overview of Gut Flora and Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101
- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M.R., Yarmand, M.S. and Razavi S.H., 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111, 50–55.
- <http://www.fao.org/docrep/w6355e/w6355e0x.htm>
- Huges, D.B. and Hoover D.G., 1991. Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy products. *Food Technology*, 45(4), 74–83.
- Ishibashi, N. and Shimamura S., 1993. Bifidobacteria research and development in Japan. *Food Technology*, 47, 126–135.
- Iwana, H., Masuda H., Fujisawa T., Suzuki H. and Mitsuoka T., 1993. Isolation and identification of *Bifidobacterium* ssp. in commercial yoghurt sold in Europe. *Bifidobacteria Microflora*, 12(1), 39–45.

- Jankowski, T., Zielinska M. and Wysakowska A., 1997. Encapsulation of lactic and bacteria with alginate/starch capsules. *Biotechnol Technol.* 11, 31-34.
- Kailaspathy, K. and Chin, J., 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol*, 78(1), 80-88.
- Kearney, L., Upton M. and Loughlin A., 1990. Enhancing the viability of *Lactobacillus plantarum* inoculum by immobilizing the cells in calcium-alginate beads. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(10), 3112–3116.
- Kebary, K.M.K., Hussein S.A. and Badawi R.M., 1998. Improving viability of *Bifidobacterium* and their effect on frozen ice milk. *J Dairy Sci.* 26, 319-337.
- Khalil, A.H. and Mansour E.H., 1998. Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. *J Food Sci.* 63, 702-705.
- Kim, H.S., Kamara B.J., Good I.C. and Enders G.L., 1988. Method for the preparation of stable microencapsulated lactic acid bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 3(4), 253–257.
- Kim, I.K., Baek Y.J. and Yoon Y.H., 1996. Effects of dehydration media and immobilization in calcium-alginate on the survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. *Korean J Dairy Sci.* 18, 193-198.
- Kim, K.I. and Yoon Y.H., 1995. A study on the preparation of direct vat lactic acid bacterial starter. *Korean Journal of Dairy Science*, 17(2), 129–134.
- Kim, Se-Jin., Cho, S.Y., Kim, S.H., Song, Ok-Ja., Shin, S., Cha, D.S., Park, H.J., 2008. Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT*, 41, 493–500.
- Klien, J., Stock J. and Vorlop K.D., 1983. Pore size and properties of spherical calcium alginate biocatalysts. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol.* 18, 86-91.
- Krasaekoopt, W., Bhandari B. and Deeth H., 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Krasaekoopt, W., Bhandari B. and Deeth H., 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14, 737–743.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H., 2006. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *LWT*, 39, 177–183.
- Kritchevsky, D., 1995. Epidemiology of fiber, resistant starch and colorectal cancer. *Eur J Cancer Prev.* 4, 345-352.
- Kurman, J.A. and Rasic J.L., 1991. The health potential of products containing *Bifidobacteria*. In R. K. Robinson (Ed.), *Therapeutic properties of fermented milks*. London: Elsevier Application Food Science Series, 117–158
- Lankaputhra, W.E.V. and Shah N.P., 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in the presence of acid and bile salts. *Cultured Dairy Products Journal*, 30(3), 2–7.
- Lankaputhra, W.E.V., Shah N.P. and Britz M.L., 1996. Survival of *bifidobacteria* during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft*, 51(2), 65-70.
- Laroia, S. and Martin J.H., 1991. Methods for enumerating and propagating *bifidobacteria*. *Cultured Dairy Products Journal*, 26(2), 32–33.

- Lee, J.S., Cha D.S. and Park H.J., 2004. Survival of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* KFRI 3673 in chitosan-coated calcium alginate microparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7300–7305.
- Lee, K.I. and Heo, T.R., 2000. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. *Appl Environ Microbiol.* 66, 869-973.
- Le-Tien, C., Millette M., Mateescu M.A. and Lacroix M., 2004. Modified alginate and chitosan for lactic acid bacteria immobilization. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 39, 347–354.
- Lim, K., Huh C.S. and Baek Y.J., 1993. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 76(8), 2168–2174.
- Lima, K.G.C., Kruger, M.F., Behrens, J., Destro, M.T., Landgraf, M. and Franco, B.D.G.M., 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Technology*, 42, 491495.
- Lock, J.L. and Board R.G., 1994. The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in deliberately infected commercial mayonnaise. *Food Microbiology*, 11, 499-504.
- Lourens-Hattingh, A. and Viljoen B.C., 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1–17.
- Mandal, S., Puniya A.K. and Singh K., 2006. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. *International Dairy Journal*, 16, 1190–1195.
- Martinsen, A., Skjak-Brae K. and Smidsrod C., 1989. Alginate as immobilization material: 1. correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnol Bioeng.* 33, 79-89.
- Meydani, S.N. and Ha W., 2000. Immunologic effects of yogurt. *Am J Clin Nutr* 71(4), 861-72.
- Muthukumarasamy, P. and Holley R.A., 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 164–169.
- Muthukumarasamy, P., Allan-Wojtas, P. and Holley R. A., 2006. Stability of *Lactobacillus reuteri* in Different Types of Microcapsules. *Journal of Food Science*, 71(1), 21-24.
- Noh, D.O. and Gilliland S.E., 1993. Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal Dairy Science*, 76(5), 1253–1259.
- Özer, B., Kirmaci H.A., Şenel E., Atamer, M., Hayaloglu, A., 2009. Improving the viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in white brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*, 19, 22-29.
- Özer, B., Uzun Y.S., and Kirmaci H.A., 2008. Effect of Microencapsulation on Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 During Kasar Cheese Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 61(3), 237-244.
- Pagano, J.C., 1998. Nueva Legislacion del MERCOSUR para leches fermentadas. *Industria Lechera*, 7(13), 8–13.

- Prevost, H. and Divies C., 1988. Continuous pre-fermentation of milk by entrapped yoghurt bacteria. I. Development of the process. *Milchwissenschaft*, 43(10), 621–625.
- Prevost, H. and Divies C., 1992. Cream fermentation by a mixed culture of lactococci entrapped in two-layer calcium alginate gel beads. *Biotechnol Let.* 14, 583-588.
- Rao, A.V., Shiwnarain N. and Maharaj I., 1989. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 22(4), 345–349.
- Rasic, J.L. and Kurmann J.A., 1983. *Bifidobacteria* and their role. Basel: Birkhauser.
- Ravula, R.R. and Shah N.P., 1998. Viability of probiotic bacteria in fermented frozen dairy desserts. *Food Australia*, 50(3), 136–139.
- Reid, G., Zalai C. and Gardiner G., 2001. Urogenital *lactobacilli* probiotics, reliability, and regulatory issues. *J Dairy Sci*, 84(E Suppl), E164-E169.
- Reuter, G., 1990. Bifidobacteria cultures as components of yoghurt like products. *Bifidobacteria Microflora*, 9(1), 107.
- Robinson, R.K., 1987. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. *Suid Afrikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde*, 19(1), 25–27.
- Rokka, S. and Rantamäki P., 2010. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol*, 231, 1–12.
- Rybka, S. and Kailasapathy K., 1995. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB yoghurts. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 50(2), 51–57.
- Sabikhi, L., Babu R., Thompkinson D.K. and Kapila S., 2010. Resistance of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA1 to Processing Treatments and Simulated Gut Conditions. *Food Bioprocess Technol*, 3, 586–593.
- Schillinger, U., 1999. Isolation and identification of lactobacilli from novel-type probiotic and mild yoghurts and their stability during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 47(1/2), 79–87.
- Shah, N.P. and Lankaputhra W.E.V. 1997. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt. *International Dairy Journal*, 7(5), 349–356.
- Shah, N.P. and Rarula R.R., 2000. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Aust J Dairy Technol.* 55, 139-144.
- Shah, N.P., 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci*, 83(4), 894-907.
- Shah, N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M. and Kyle W.S.A., 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 5(5), 515–521.
- Sheu, T.Y. and Marshall R.T., 1993. Microentrapment of Lactobacilli in Calcium Alginate Gels. *Journal of Food Science*, 54(3), 557–561.
- Sheu, T.Y., Marshall R.T. and Heymann H., 1993. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. *J. Dairy Sci.* 76(7), 1902-1907.
- Stanton, C., Gardiner G., Lynch P.B., Collins J.K., Fitzgerald G. and Ross R.P., 1998. Probiotic Cheese. *Int. Dairy Journal*, 8, 491-496.
- Stenson, L. R., Klaenhammer T. R. and Swaisgood H. E., 1987. Calcium alginate-immobilized cultures of lactic streptococci are protected from bacteriophages. *Journal of Dairy Science*, 70(6), 1121–1127.

- Sultana, K., Godward G., Reynolds N., Arumugaswamy R., Peiris P. and Kailasapathy K., 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int J Food Microbiol.* 62, 47-55.
- Sun, W. and Griffiths, M.W., 2000. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, 61, 17-25.
- Sung, H.H., 1997. Enhancing survival of lactic acid bacteria in ice cream by natural encapsulation. *Dissertation Abstracts International*, 13(9), 5407.
- Tagg, J.R., Dajani A.S. and Wannamaker L.W., 1976. Bacteriocins of gram-negative bacteria. *Bacteriological Review*, 40(3), 722– 5407756.
- Tanaka, H., Masatose M. and Veleky IA., 1984. Diffusion characteristics of substrates in calcium-alginate beads. *Biotechnol Bioeng.* 26, 53-58.
- Tannock, G.W., 1997. Probiotic properties of lactic acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Tibtech*, 15, 270-274.
- Truelstrup-Hansen, L., Allan-Wojtas P.M., Jin Y.L. and Paulson A.T., 2002. Survival of free and calcium-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in simulated gastro-intestinal conditions. *Food Microbiol.* 19, 35-45.
- Vinderola, C.G., Bailo N. and Reinheimer J.A., 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33(2), 97–102.
- Vinderola, C.G., Bailo, N. and Reinheimer, J.A. (2000). Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33(2), 97–102.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Karabük'te doğdu. İlkokulu 1995 yılında Safranbulu Zati Ağar İlkokulu'ndan, Orta okul ve Lise öğrenimini 2003 yılında Safranbolu Anadolu Lisesi'nden mezun olarak tamamladı.

2008 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Müh. A.B.D'de Yüksek Lisans eğitimine başladı. Lisans eğitiminden mezun olduktan hemen sonra Doğan Holding'e bağlı Gümüşhane'de faaliyet gösteren Doğan Organik Süt Üretim Tesislerinde 4 ay süreyle Kalite Kontrol Uzmanı olarak görev yaptı.

Şubat 2009'da Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Müh. A.B.D'de açılan Araştırma Görevliliği sınavını kazandı.

Mart 2010'da Yüksek Öğretim Kurumu Yurtdışı Tez Araştırma bursunu kazandı ve bu kapsamda 4 Ay'a yakın bir süre ABD Utah State Üniversitesi Beslenme ve Gıda Bilimleri Bölümü'nde, öğretim üyesi ve Western Dairy Center Yöneticisi Prof. Dr. Donald J. McMahon danışmanlığında "Probiyotik Bakterilerin Mikroenkapsülasyonu" konusunda araştırmalarda bulundu.

Halen Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği A.B.D'de araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır, evlidir.