

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**PROTEİN TİPİNİN SİTRALİN PROTEİN-
POLİSAKKARİT KOMPLEKSLERİ TARAFINDAN
NANOENKAPSÜLASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Demet ATICI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2023
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**PROTEİN TİPİNİN SİTRALİN PROTEİN-
POLİSAKKARİT KOMPLEKSLERİ TARAFINDAN
NANOENKAPSÜLASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Demet ATICI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Demet ATICI

İmza

“Protein Tipinin Sitralin Protein-Polisakkarit Kompleksleri Tarafından Nanoenkapsülasyonu Üzerindeki Etkileri” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Demet ATICI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR

İmza

Gıda Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Zülal Kesmen

İmza

TEŞEKKÜR

Çalıőmam boyunca her türlü yardımı ve fedakârlığı yapan, desteğini, emeğini esirgemeyen, daima tecrübesinden ve bilgi birikiminden yararlandığım danıőmanım saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR ‘a sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalıőmamda ve öncesinde lisans hayatımda tecrübesiyle, bilgisiyle yardımını esirgemeyen, her daim bizleri destekleyen saygıdeğer hocam Prof.Dr. Hasan YALÇIN ‘a teőekkürler ederim.

Ayrıca, bugünlere gelmemde çok emeği olan, her zaman yanımda olan canım aileme ve çalıőmalarım süresince sabır göstererek beni daima destekleyen, bana güvenen ve desteklerini hiç esirgemeyen canım arkadaşlarıma en içten teőekkürlerimi sunarım.

Demet ATICI

Haziran 2023, KAYSERİ

PROTEİN TİPİNİN SİTRALİN PROTEİN-POLİSAKKARİT KOMPLEKSLERİ TARAFINDAN NANOENKAPSÜLASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Demet ATICI

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2023

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR

ÖZET

Sitral, gıda, içecek ve kozmetik endüstrisinde aroma maddesi olarak çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Sitral kimyasal olarak kararsız olup, oksijene ve asidik pH'ya duyarlılığı nedeniyle de depolama sırasında bir takım bozunmalara uğrar. Oksidasyon reaksiyonları ve asit katalizli bozunma arzu edilen aroma bileşenlerinin seviyesini azaltır ve istenmeyen aroma bileşenlerinin seviyesini artırır. Böylece sitralin kararsız özellikleri raf ömrünü kısıtlamakta ve gıdanın kabul edilebilirliğini azaltmaktadır. Bu çalışmada sitralin nanoenkapsülasyonunda protein tipinin etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, sitral nanokapsüllemenin optimizasyonu için iki tip protein (peynir altı suyu proteini konsantresi ve yağsız süt tozu) çeşidi kullanılmıştır. Optimum sonuç Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) Box-Behnken Design kullanılarak belirlenmiştir. Faktör olarak, protein tipi, pH, protein polisakkarit konsantrasyonları, yanıt olarak ise L^* değeri, stabilite ve viskozite sonuçları seçilmiştir. Optimum nokta pH 3'te Karragenean %1, Peyniraltı suyu proteini %4, protein polisakkarit oranı 4:1 olarak bulunmuştur. Bu noktada L^* değeri ve stabilite maksimum olarak seçilmiştir. Optimum noktada farklı pH (3, 6, 9) değerlerinde sitralin nanokapsülasyon solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan bu solüsyonlarda partikül boyutu pH (3, 6, 9) için sırasıyla 340.2 nm, 345.8 nm, 83.12 nm bulunurken zeta potansiyeli sonuçları sırasıyla +3.77, -18.4 ve -21.4 mV olarak bulunmuştur. Sitral yüklü nankomplekslerin dondurularak kurutulması yapılarak farklı pH'lardaki (3, 6, 9) nanokompleksler toz haline getirilmiştir. Tozlarda kapsülleme verimliliği (EE) pH 3,6,9 da sırasıyla %64.808, %52,210, %35.945 olarak hesaplanmıştır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri incelendiğinde pH arttıkça yüzeydeki delikli yapı arttığı gözlemlenirken atomik kuvvet mikroskobu (AFM) sonuçlarında parçacık morfolojisinin görüntüleri partikül boyutlarıyla karşılaştırılmış ve birbirleriyle uyum sağladığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak bu ürünün farklı pH aralığında kullanımları incelenmiş olup pH 3'teki nanokapsüllerin verimliliğinin en yüksek olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Sitral, protein-polisakkarit kompleks, nanoenkapsülasyon.

EFFECTS OF THE PROTEIN TYPE ON THE NANOENCAPSULATION OF CITRAL BY PROTEIN-POLYSACCHARIDE COMPLEXES

Demet ATICI

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, June 2023

Supervisor: Assistant Prof. Üyesi Tuğba DURSUN ÇAPAR

ABSTRACT

Citral is very commonly used as a flavoring compound in food, drink and cosmetic industry. It decomposes during storage due to its sensitivity of oxygen and acidic pH. Oxidation reactions and acid-catalyzed decomposition decreases the level of desirable flavor components and increases the level of undesirable flavor components. Thus, the unstable properties of citral limit shelf life and reduce food acceptability. In this study effects of protein type on the nanoencapsulation of citral was investigated. For this aim, two types of protein (whey protein concentrate (wpc) and skim milk) was used to optimization of citral nanoencapsulation. The optimum result was determined by using Response Surface Methodology (RSM) Box-Behnken design. The protein type, pH, protein and polysaccharide concentrations were selected as factors and L^* value, stability and viscosity results were selected as responses. The optimum point was found as 4% whey protein, 1% carrageenan pH 3. At this point, the viscosity and L^* value stability were maximized. At the optimum point, citral nanoencapsulation solution was prepared at different pH (3, 6, 9) values. In these prepared solutions, the particle size was found to be 340.2nm, 345.8nm, and 83.12nm for pH (3,6,9), respectively, while the zeta potential results were found to be +3.77, -18.4 and -21.4 mV. By freeze drying the citral loaded nanocomplexes, nanocomplexes at different pH(3, 6, 9) were dried. The encapsulation efficiencies (EE), were calculated as 64.808%, 52.210% and 35.945% at pH 3,6 and 9 respectively. When scanning electron microscopy (SEM) images were examined, it was observed that the porous structure on the surface increased as the pH increased, while the images of the particle morphology in the atomic force microscopy (AFM) results were compared with the particle sizes and it was observed that they were compatible with each other.

Keywords: Citral , protein- polysaccharide complex, nanoencapsulation.

İÇİNDEKİLER

PROTEİN TİPİNİN SİTRALİN PROTEİN-POLİSAKKARİT KOMPLEKSLERİ TARAFINDAN NANOENKAPSÜLASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	xi
TABLOLAR LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv

1. BÖLÜM

GİRİŞ

1.1.Sitral	1
1.2.Kapsülasyon Teknolojisi.....	3
1.3.Mikrokapsülasyon teknikleri	7
1.4. Emülsiyonlar.....	9
1.5. Kaplayıcı Maddeler ve Özellikleri.....	10
1.5.1. Proteinler	12
1.5.1.1.Peynir altı suyu (Whey) proteini.....	12
1.5.2.Polisakkaritler	13
1.5.2.1. Karragenan	14
1.5.2.2. Maltodekstrin	14
1.6. Protein Polisakkarit Kompleks.....	15
1.7. Yanıt Yüzey Metodolojisi (RSM).....	15
1.8. Literatür Taraması	16

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal.....	21
2.2. Metod.....	21
2.2.1. Biyopolimer solüsyonların hazırlanması ve deneysel tasarım	21
2.2.2. Sitral yüklü Whey-Karreeganan-MD nanokomplekslerinin hazırlanması	23
2.2.3. Nanokompleks çözeltilerin renk ölçümü.....	24
2.2.4. Nanokompleks çözeltilerin viskozite ölçümü.....	24
2.2.5. Nanokompleks çözeltilerin stabilite ölçümü	24
2.2.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü.....	25
2.2.7. Sitral yüklü nanokomplekslerin dondurularak kurutulması (Liyofilizasyon)	25
2.2.8. Sitralin kapsüllenme verimliliği.....	25
2.2.9. Nanokompleks olarak hazırlanan tozların fizikokimyasal özellikleri	26
2.2.9.1. Kütle yoğunluğu	26
2.2.9.2. Mutlak yoğunluk	26
2.2.9.3. Gözeneklilik	26
2.2.9.4. Çözünürlük	26
2.2.9.5. Nanokompleks tozun renk analizi	26
2.2.9.6. FT-IR analizi	27
2.2.9.7. Nanokomplekslerin morfolojik karakterizasyonu	27

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Optimum Kaplama Materyalinin Oluşturulması	28
3.2. Viskozite	30
3.3. L^* değeri.....	33
3.4. Stabilite	35
3.5. Nanokompleks çözeltilerin fizikokimyasal özellikleri	38
3.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü.....	39
3.7. Sitralin kapsüllenme verimliliği.....	40
3.8. Nanokompleks olarak hazırlanan tozların fizikokimyasal özellikleri	42
3.8.1. FT-IR analizi	45

3.8.2. Nanokomplekslerin morfolojik karakterizasyonu (SEM,AFM)	48
---	-----------

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

KAYNAKÇA	55
ÖZGEÇMİŞ.....	65



KISALTMALAR

μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
ADI	: Kabul edilebilir günlük alım
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
AG	: Arap zankı
ANOVA	: Varyans analizi
C	: Karbon atomu
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
C.V%	: Varyasyon katsayısı
Ca	: Karragenan
CaCl_2	: Kalsiyum klorür
CaCO_3	: Kalsiyum karbonat
CD	: Siklodekstrinler
CH_2	: Metilen
cm	: Santimetre
CMC	: Karboksimetil selüloz
-COOH	: Karboksilik asit
dk	: Dakika
EE	: Enkapsülasyon verimliliği
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FTIR	: Fourier transform infrared (fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi)
g	: Gram
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
GRAS	: Generally recognized as safe (genellikle güvenilir kabul edilen)
kg	: Kilogram
Lt	: Litre
M	: Molar
MD	: Maltodektrin
mg	: Miligram
ml	: Mililitre

mm/sn	: milimetre/saniye
mV	: milivolt
Na-Alj	: Sodyum aljinat
-NH ₂	: Amin
nm	: Nanometre
Pa.s	: Paskal saniye
pH	: Potential of hydrogen
R ²	: R squared
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Revolution per minute)
RSM	: Yanıt Yüzey Metodolojisi
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	: Ultraviyole
w/v	: weight/volume (Hacimde ağırlıkça yüzde)
WPC	: Peyniraltı suyu,protein konsantresi
α	: Alfa
β	: Beta

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1.	Sitral'in kimyasal özellikleri.....	3
Tablo 1.2.	Sınıflarına göre kapsüllemede kullanılan kapsülleme maddeleri	4
Tablo 1.3.	Mikrokapsülasyonda kullanılan yöntemler.....	7
Tablo 2.1.	Box-Behnken Tasarımı	22
Tablo 3.1.	Optimizasyon için Box-Behnken Tasarımı.....	29
Tablo 3.2.	Bağımsız değişkenler ve seviyeleri.....	30
Tablo 3.3.	Viskozite için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu	30
Tablo 3.4.	Viskozite için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar	31
Tablo 3.5.	L* değeri RSM Box-Behnken ANOVA tablosu	33
Tablo 3.6.	L* değeri için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar	34
Tablo 3.7.	Stabilite için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu	36
Tablo 3.8.	Stabilite için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar	36
Tablo 3.9.	Emülsiyonların Analiz sonuçları	38
Tablo 3.10.	Nanokompleks tozların fizikokimyasal özellikleri	43
Tablo 3.11.	Dalga sayısına karşılık gelen bileşenler.....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

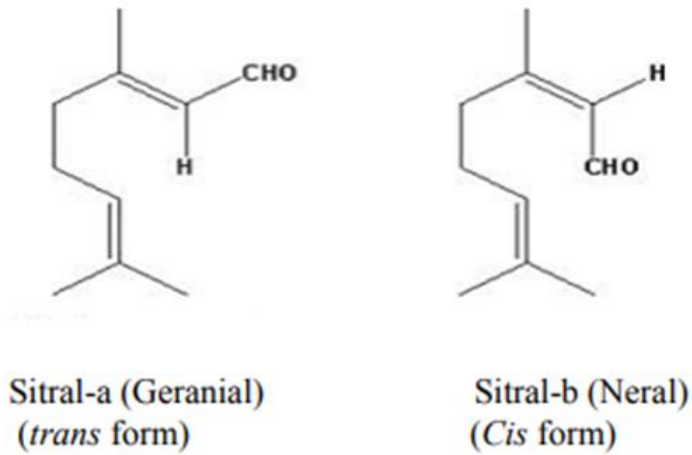
Şekil 1.1.	Gerensial ve neral'in açık kimyasal formülü.....	1
Şekil 1.2.	Sitral bozulma ürünlerinin oluşum yolları mekanizması	2
Şekil 1.3.	Mikrokapsülün şematik gösterimi; duvar materyali, kaplayıcı materyal, mikrokapsül.....	4
Şekil 1.4.	Kapsülasyonun şematik gösterimi.....	5
Şekil 1.5.	Endüstriyel uygulamalar için en çok kullanılan kapsülleme teknolojilerinin gösterimi	9
Şekil 1.6.	Kabuk malzemesinde kapsüllemiş çekirdeğin şematik diyagramı.....	10
Şekil 2.1.	Karagenan-maltodekstri-peynir altı suyu proteini biyopolimer solüsyonları	21
Şekil 2.2.	Ultrasound uygulaması yapılan örnekler	23
Şekil 2.3.	Renk ölçüm cihazı ve ölçüm aşaması	24
Şekil 3.1.	pH, protein konsantresi (Whey) ve karagenandan (Ca) etkilenen nanokomplekslerin viskozite değerleri	31
Şekil 3.2.	pH, protein konsantresi (Skimmilk) ve karagenandan (Ca) etkilenen nanokomplekslerin viskozite değerleri	32
Şekil 3.3.	pH, protein konsantresi (Skimmilk) ve karagenandan (Ca) etkilenen nanokomplekslerin L değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği .	34
Şekil 3.4.	pH, protein konsantresi (Whey) ve karagenandan (Ca) etkilenen nanokomplekslerin L değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği .	35
Şekil 3.5.	pH, protein konsantresi (W veya S) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin stabilitesi.....	37
Şekil 3.6.	Sırasıyla pH 3,6,9'da hazırlanan nanokomplekslerinin partikül boyutu(sol taraf) ve zeta potansiyel(sağ taraf) sonuçları.....	39
Şekil 3.7.	Sitralin kalibrasyon eğrisi grafiği.....	41
Şekil 3.8.	pH (3,6,9) nanokomplekslerin FTIR analiz sonucu	45
Şekil 3.9.	pH 3 'teki nanokomplekslerin SEM görüntüleri	48
Şekil 3.10.	pH 6 'daki nanokomplekslerin SEM görüntüleri.....	49
Şekil 3.11.	pH 9'daki nanokomplekslerin SEM görüntüleri.....	49
Şekil 3.12.	pH 3' teki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri.....	52
Şekil 3.13.	pH 6' daki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri.....	52
Şekil 3.14.	pH 9' daki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri.....	52

1. BÖLÜM

GİRİŞ

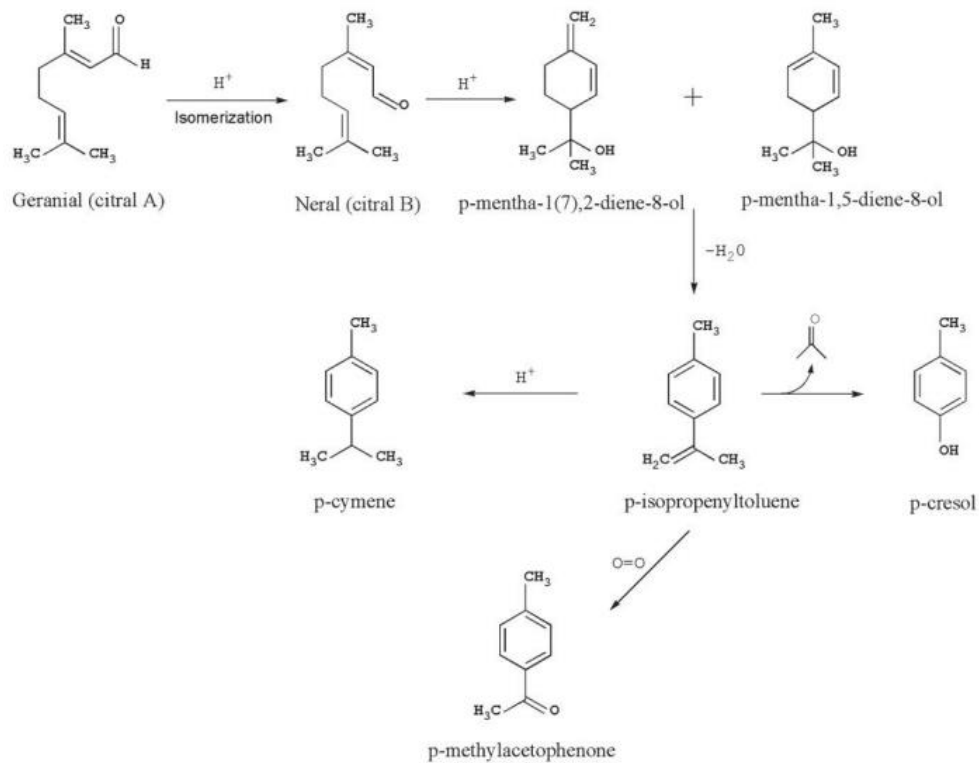
1.1.Sitral

Sitral (3,7-dimetil-2,6-octadienal), limon otu, portakal ve narenciye aromalarında bulunan önemli bir aroma bileşiğidir [1,2]. Güçlü limon benzeri bir aromaya ve kokuya sahip olduğu için tüketici tarafından kabulü yüksek olan gıda, içecek ve parfümeri endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [3,4]. Doğada yaygın olarak bulunan α,β -doymamış aldehit olan sitral, (C₁₀H₁₆O) 3,7- dimetil-2,6-octadienal olarak da adlandırılır [5]. Sitral, neral (cis-citral veya citral A) ve geranial (trans-citral veya citral B) olmak üzere iki geometrik izomerden oluşur ve her iki izomerin de tatlı ve güçlü limon kokuları vardır [6,7]. Neral ve geranial aynı molekül formülüne, farklı moleküler yapılarına sahiptirler [5]. Moleküler yapıları Şekil 1.1'de gösterildiği gibidir. Hava ile temasla oksidasyona uğramakta; oksidasyon, sıcaklık ve ışık ile artmaktadır [8]. Geranial'in daha güçlü bir limon kokusu varken ve neral'in kokusu daha az yoğun ama daha tatlıdır [2].



Şekil 1.1. Geranial ve neral'in açık kimyasal formülü [8]

Bir aldehit grubu içeren monoterpen yapısından dolayı sitral, düşük pH'lı veya oksidatif koşullara karşı oldukça hassastır ve kimyasal olarak bir takım bozulmalara uğrar [3,9,10]. Sitral'in asit katalizli ve oksidatif reaksiyonların bir sonucu olarak asidik sulu çözeltilerde zamanla bozunması nedeniyle arzu edilen aromanın kaybolmasına ve kötü istenmeyen tatların oluşmasına yol açar [11]. Düşük pH'da sitraldeki bozunma (Şekil 1.2), genarial'den neral'e izomerleşmesiyle başlar ve daha sonra p-menthadien-8-ol ve p-menthadien-4-ol gibi monoterpen alkollerini oluşturur. Bu ara monoterpen alkoller, p-dimetilstiren, p-simen ve p-kresol gibi stabil aromatik bileşikler üretmek için bir dehidrasyon reaksiyonuna giren p-cymene-8-ol'e oksitlenir. p-simen, p-kresol ve p-metilasetofenon, sitralin en güçlü bozunma ürünleridir [3,6].



Şekil 1.2. Sitral bozulma ürünlerinin oluşum yolları mekanizması [1]

p-Simen, p-kresol ve p-metilasetofenon, sitralin en yaygın bozunma ürünleridir ve kokuları fenollerinkine benzerdir [1]. Bu reaksiyonlar sadece taze limon aromasını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda kötü bir kokuya da neden olur. Asidik koşullar altında, sitralden kötü kokulu bileşiklerin oluşumu pH, sıcaklık, ışık ve oksijen mevcudiyetinden etkilenir [12]. Bu nedenle sitralin kararsız özelliği, raf ömrünü ve asitli narenciye aromalı yiyecek ve içeceklerin kabul edilebilirliğini sınırlar. [1]

Sitral, normal saklama koşulları altında kararsız ve hidrofobiktir. Ayrıca nötr pH'ta ve suda çözünmez [10].

Güçlü limon kokusu nedeniyle gıdalarda, içeceklerde ve kozmetiklerde katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [4]. Daha karmaşık ve otantik aroma profillerinin yanı sıra, içeriklerinde doğal olan tüketici talebi, sitralin farklı yiyecek ve içecek ürünlerine dahil edilmesine yönelik talebin artmasına neden olmuştur [3]. Fakat, sitralin yiyecek ve içeceklere dahil edilmesi, gıda endüstrisi için büyük bir zorluktur çünkü ürün kalitesindeki kaybı en aza indirmek için sitralin kimyasal bozulmasının önlenmesi gerekir [4]. Sitralin hızlı bozunmadan korunması ve düşük pH'ta birincil kötü tatların en aza indirilmesi, onlarca yıldır gıda endüstrisinde ele alınan bir konu olmuştur. Bu yüzden püskürterek kurutma, emülsifikasyon, miseller ve kendiliğinden oluşan dağıtım sistemleri dahil olmak üzere sitrali stabilize etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir [1]. Bu sorunların üstesinden gelmek için koruyucu matrislerde sitralin mikro kapsüllemesi sıklıkla kullanılmaktadır [2].

Sitral geleneksel tıp alanında da spazm önleyici, analjezik, iltihap giderici, ateş düşürücü, idrar söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. [3]

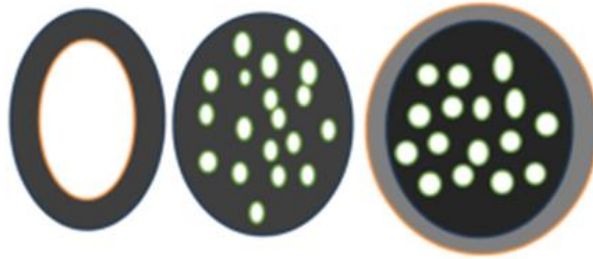
Tablo 1.1. Sitral'in kimyasal özellikleri [5]

Bilinen adları	3,7-dimetil-2,6-octadienal
CAS kayıt no	5392-40-5
Kapalı formülü	C ₁₀ H ₁₆ O
Molekül ağırlığı	152.23 g/mol
Erime sıcaklığı	< -10 °C
Kaynama sıcaklığı	229 °C
Yoğunluğu	0.888 g/cm ³
Suda çözünürlüğü	Çözünmez (25 °C)
Fiziksel durumu	Sıvı
Renk	Açık sarı

1.2.Kapsülasyon Teknolojisi

Kapsülleme kelimesi, Latince'den türemiş olup en ön eki "içeri", capsula kelimesi ise "küçük bir kutu" anlamına gelmektedir [13]. Kapsülleme, bir maddeyi başka bir madde içinde hapsedme işlemi olarak tanımlanır. Kapsüllemiş madde; aktif madde, çekirdek, dolgu, aktif, iç veya yük fazı olarak adlandırılır. Kapsülleyen madde genellikle kaplama,

zar, kabuk, kapsül, taşıyıcı malzeme, duvar malzemesi, dış faz veya matris olarak adlandırılır [14,15]. Mikrokapsülasyonun şematik gösterimi Şekil 1.3 'te gösterilmiştir.



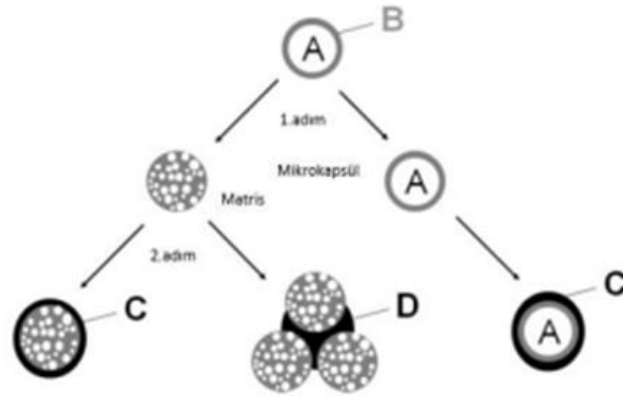
Şekil 1.3. Mikrokapsülün şematik gösterimi; duvar materyali, kaplayıcı materyal, mikrokapsül [16]

Duvar veya matris olarak adlandırılan üstteki malzeme, genellikle işlenecek malzeme ile reaksiyona girmez [17]. Biyoaktif çekirdek malzemelerin kaplanması; polisakkaritler, nişastalar, proteinler, yağlar, mumlar gibi doğal ve sentetik duvar malzemeleri kullanılmaktadır [18].

Gıda uygulamalarında en çok nişasta, maltodekstrin, pullulan, sakaroz, maltoz gibi karbonhidratlar ile jelatin, peynir altı suyu proteinleri, kazein ve kazeinatlar gibi proteinler ve gam arabik gibi gamlar kaplama materyali olarak kullanılmaktadır [16]. İyi bir kaplama elde etmek için kapsülleyici maddeler olarak çeşitli malzemeler kullanılabilir. Bu maddeler Tablo 1.2 'de gösterildiği gibi doğal, yarı sentetik ve sentetik kökenli olabilir.

Tablo 1.2. Sınıflarına göre kapsüllemede kullanılan kapsülleme maddeleri [19]

Kapsülleyici ajanlar	Örnekler
Doğal	Sodyum aljinat, İrlanda yosunu, jelatin, arap zankı, agar, dekstran, kitosan, kazeinat, sukroz ve mum vb.
Yarı sentetik	Hidroksipropilselüloz, metilselüloz, sodyum karboksimetilselüloz, miristil alkol, monogliserol, diasilgliserol veya dipalmitat, monostearat, gliserol distearat ve tristearat, selüloz asetat, selüloz nitrat, etilselüloz vb.
Sentetik	Akrilik asit polimerleri ve kopolimerleri.



Aroma enkapsüllerinin yapısı
A: Çekirdek, B: Kabuk ya da matris, C: Kaplama, D: Bağlayıcı madde

Şekil 1.4. Kapsülasyonun şematik gösterimi [20]

Kapsülleme, moleküllerin ve canlı hücrelerin parçacıklar yoluyla salınmasını optimize etmek için uygun bir araç olarak kabul edilen yenilebilir kapsüllerdeki parçacıkların (sıvı, gaz veya katı) paketlenmesi teknolojisinden oluşur [19].

Şekil 1.4'te gösterildiği gibi, kapsülleme teknolojisi, duvar malzemesinin ve işleme koşullarının uygun seçimi ile çeşitli morfolojilerde oluşturulur [20]. Oluşturulan bu mikrokapsüller, boyutlarına (mikrokapsüller ve nanokapsüller) veya morfoloji türlerine göre (monocore, polycore ve matrix) sınıflandırılabilir [18]. Kapsülasyonda parçacık boyutu 1 nm'nin altında olduğunda sırasıyla nanoparçacıklar, nano kapsüller, nanosferler olarak bilinirler ve 3–800 nm arasında çapa sahip parçacıklar mikroparçacıklar, mikrokapsüller, mikropartiküller veya mikroküreler olarak bilinir. 1000 nm'den büyük parçacıklar makro parçacıklar olarak bilinir [21].

Mikrokapsülleme üzerine yapılan araştırmalar 1930'ların sonunda başlamıştır [22]. 1930'ların sonunda Dayton, Ohio'da bir laboratuvarında et Green adlı kimyacının çalışmalarıyla başlamıştır. Bazı farmasötik maddelerin ve preparatların kaplama gereksinmesinden dolayı ilk çalışmalar yapılmış ve tabletler draje haline getirilmeye başlanmıştır. 1924 yılında Almanya'da balık yağı, Hint yağı, demir sakkarat ve kalsiyum fosfat gibi bazı sıvı ve katı maddelerin jelâtinle kapsüllemesini içeren bir patent alınmıştır. Bu patentte açıklanan yöntem göre, bu yağ veya tozlar jelâtin çözeltisi içinde dağıtılıp, soğuk benzen içine damlatılarak, damlanın katılaşması ile sağlanmaktadır [23].

Son zamanlarda ilaç, kozmetik, tarım, tekstil ve gıda gibi farklı endüstriyel sektörler, çeşitli amaçlar için mikrokapsülasyon uygulamasını kullanmaktadır [22].

Gıda sektöründe de kapsülleme, bir veya daha fazla gıda bileşeninin yenilebilir bir kapsül aracılığıyla kaplanması işlemidir ve bu amaç doğrultusunda kullanılmaktadır [19].

Kapsülleme, aktif bir bileşiği koruyucu bir duvar malzemesi ile kaplamak için etkili bir yöntem sağlar ve sayısız avantaj sunar [15]. En önemli avantajlarından birisi, dış çevrenin sebep olduğu bozulmalara karşı enkapsüle edilecek materyali korumak ve kompozisyonundaki belirli maddelerin kontrollü salınımını sağlamaktadır [24]. İşleme ve depolama sırasında biyoaktif bileşiklerin stabilitesini korumayı ve gıda matrisi ile istenmeyen etkileşimleri önlemeyi, istenmeyen renk/tat/tat maskeleymeyi, kararsız bileşenlerin korunmasını, ek işlevsel ve besleyici bileşenlerin dahil edilmesini ve kapsüllenmiş bileşenlerin kontrollü ve belirli hedefe göre salınması dahil olmak üzere çeşitli işlemlere hizmet eder [15,25].

Temel olarak, biyoaktif gıda bileşikleri, hızlı inaktivasyon ile karakterize edilir. Bu bileşikler, bozunma süreçlerini yavaşlattığı (örneğin, oksidasyon veya hidroliz) veya ürün hedef bölgelere gidene kadar bozunmayı önlediği için kapsülleme büyük avantaj sağlar [15,25].

Gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon uygulamaları birçok nedenden dolayı önem kazanmıştır [24]. Bunlar; enkapsüle edilecek maddenin çevre koşulları (ışık, oksijen, su) ile etkileşimini azaltmak, çeşitli bileşenleri gıdada buharlaşmaya, kimyasal reaksiyonlara veya migrasyona karşı korumak, biyoaktif bileşiklerin işleme ve depolama sırasında kontrollü olarak vermek ve stabilitesini korumak, maddenin kullanılabilirliğini kolaylaştırmak, gıda ürünlerindeki diğer bileşenlerle istenmeyen etkileşimleri önlemek ve hoş olmayan tat ve kokuları maskeleyerek, öz maddenin başka bileşenlerle reaksiyona girmesini önlemek, taşınmasını kolaylaştırmak, depolama sırasında bir gıda ürünüde aromayı tutmak, aromayı gıda ile istenmeyen etkileşimlerden korumak, aroma-lezzet etkileşimlerini en aza indirmek, gıda bileşenlerinin stabilitesi ve nihai gıda uygulamasındaki performansları ile ilgili sorunları çözmek için uygulanır [14, 15, 16, 24, 26].

Genel olarak mikrokapsülleme işlemi iki aşamadan oluşur ve bu aşamalar, emülsiyon hazırlama ve kurutma işlemleridir [27].

Arzu edilen özelliklerin kazanılmasında enkapsülasyon uygulaması seçildiğinde öncelikle enkapsülasyon tasarımı tespit edilmelidir. Buna göre; aktif materyalin fiziko-kimyasal özellikleri, gıda üretimi ve işlenmesi sırasında hangi işlem koşulları kullanılmaktadır, enkapsüle edilecek materyal kullanımdan önce ne kadar saklanacaktır, tüketici kullanımı öncesinde enkapsüle materyal içeren gıda ürünlerinin depolama şartları ne olacaktır, hangi parçacık boyutu ve yoğunluğunda gıda ürünlerinin içerisinde bulunacaklar, maliyet kıstasları nelerdir gibi soruların cevaplandırılması gerekmektedir [28].

Bu analizler yapıldıktan sonra; kaplama materyali seçimi, kaplama yönteminin seçimi, yasal düzenlemelere uygunluk dikkate alınarak kapsüle ürün elde edilmesi açısından tasarım tamamlanmış olmaktadır [28].

1.3.Mikrokapsülasyon teknikleri

Kapsülasyon teknolojisinde çekirdeğin doğasına ve bitmiş ürünlerin kullanım amacına bağlı olarak çeşitli kapsülleme yöntemleri bulunur [25].

Enkapsülasyon için Tablo 1.3'te de görüldüğü üzere fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. En çok kullanılan fiziksel yöntemler, çekirdek malzemeyi kaplayan duvarın oluşumunu sağlamak için sıcaklık ve basıncın kullanılmasıyla karakterize edilen ekstrüzyon ve püskürterek kurutmayı içerir. Moleküler inklüzyon gibi kimyasal yöntemler, kapsüllenmiş çekirdeği çevreleyen dış duvar malzemesinin reaktivitesi ile ayırt edilir [17].

Tablo 1.3. Mikrokapsülasyonda kullanılan yöntemler [29]

Fiziksel Yöntemler	Kimyasal Yöntemler
Püskürterek kurutma	Faz ayrımı
Püskürterek soğutma	Çözücü ile evaporasyon
Döner disk	Koaservasyon
Akışkan yatak(kurutma,granülasyon,kaplama)	Arayüzey polimerasyonu
Ekstrüzyon	Lipozom
Koekstrüzyon	Koekstrüzyon

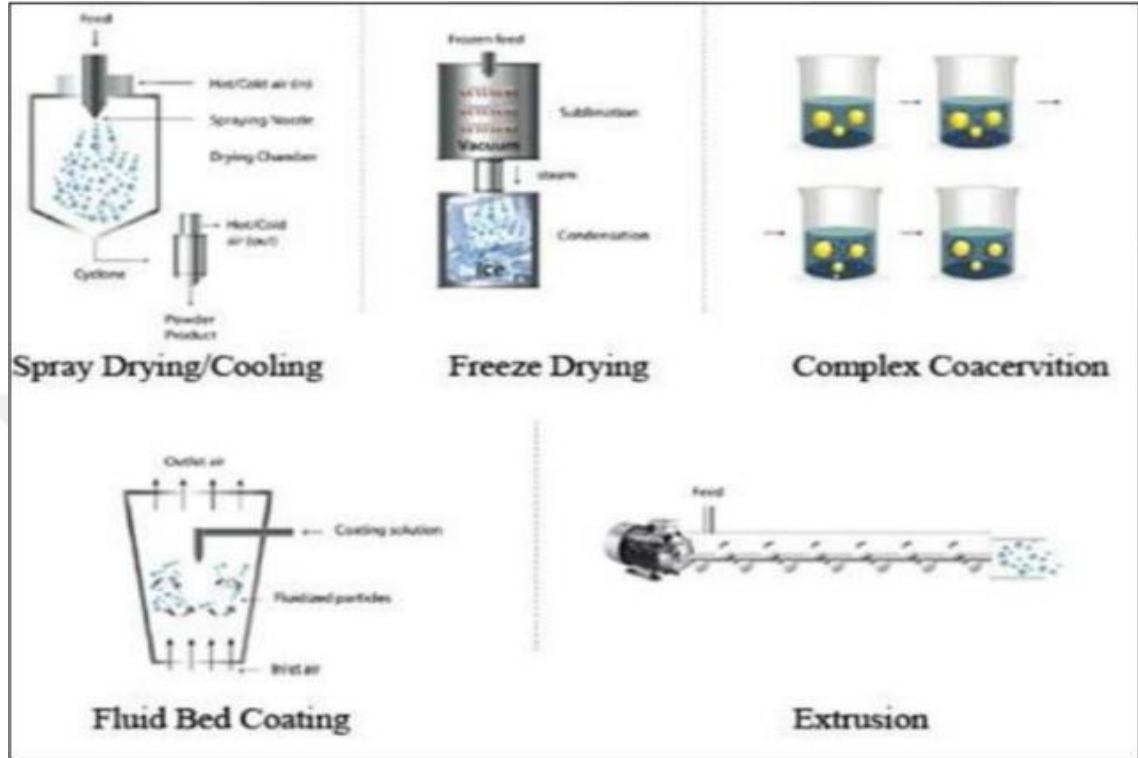
Moleküler enkapsülasyon	
Çoklu emülsiyonlar	

Kapsülleyici bileşikler genellikle sıvı formda olduğundan, bu alanda kullanılan birçok teknoloji kurutmaya dayalıdır. [15]. Püskürterek ve dondurarak kurutma, en sık kullanılan iki yöntemdir [29].

Gıda endüstrisinde enkapsülasyon için farklı yöntemler vardır. Bu yöntemlerden en yaygın kullanılanlar; püskürtmeli kurutma, püskürtmeli soğutma, akışkan yataklı kurutma, ekstrüzyon, santrifüj ekstrüzyon, koaservasyon, lipozom tutuklama, koakristalizasyon, liyofilizasyon, rotasyonel süspansiyon ayırma, moleküler ekstrüzyon ve emülsifikasyondur [15,31]. Endüstriyel uygulamalar için en çok kullanılan kapsülleme teknolojilerinden püskürterek kurutma, püskürterek soğutma, koaservasyon ve akışkan yatak kaplamının şematik gösterimi Şekil 1.5'te verilmiştir [32]. Bu yöntemler uygulanacak prosese, çekirdek materyalin yapısına, mikro veya nanokapsül için uygulanmasına, elde edilmesi istenen partikül boyutuna, çekirdek ve çekirdeği kaplayan duvar materyalinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine, istenen serbest salım mekanizmasına, üretim ölçeğine ve maliyet hesaplamasına göre seçilir ve uygulanır [31].

Dondurarak kurutma ile mikrokapsülleme, duvar ve çekirdek malzemelerini içeren beslemenin -40°C 'nin altındaki sıcaklıklarda dondurulduğu ve düşük basınç altında süblimasyon yoluyla kurutularak oluşturulduğu sistemdir. Dondurarak kurutma tekniği, kurutma işlemi sırasında düşük sıcaklıkların uygulanması ve oksijenin uzaklaştırılması nedeniyle ısıya ve oksijene duyarlı biyolojik malzemelerin mikrokapsüllemesi için basit ve uygundur [22]. Temel olarak, liyofilizasyon sistemi bir vakum odası, bir kondansatör, bir kompresör ve bir vakum pompasından oluşur. Flamalar şeklindeki kondenser, ürün tarafından salınan buharı yoğunlaştırarak buza dönüştürür ve vakum pompası, yoğunlaşmayan buharları uzaklaştırır. Bu tekniğin üç farklı aşaması vardır. Bunlar ilk dondurma aşaması, birincil kurutma ve ikincil kurutma aşamasıdır. İlk dondurma aşaması, liyofilize edilecek ürünün dondurulmasıyla başlar sonrasında birincil kurutma aşaması gelir, bu aşamada donmuş su süblimasyon yoluyla uzaklaştırılır ve liyofilize ürün içinde daha önce buz tarafından işgal edilen boş alanlar elde edilir. Suyun çoğu, başlangıç içeriğinin yaklaşık %90'ı uzaklaştırılır. En son aşama ikincil kurutmadır ve bu aşamada süblimleşmeden sonra, ürünün içinde hala önemli miktarda bağlı kalan suyun uzaklaştırılmasıdır. Bu

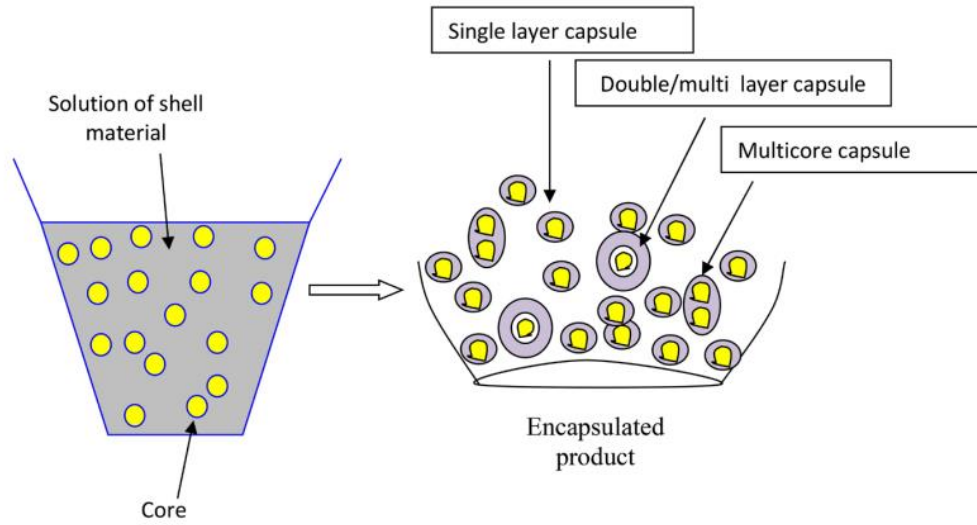
aşamanın itici gücü ısıtmadır (sıcaklık 20 ila 50°C arasında artar), burada su desorpsiyonu gerçekleşir ve nihai nem %2 ila %10'a ulaşır [19].



Şekil 1.5. Endüstriyel uygulamalar için en çok kullanılan kapsülleme teknolojilerinin gösterimi [32]

1.4. Emülsiyonlar

Emülsiyon, iki veya daha fazla karışmayan sıvı fazın karışımı olarak tanımlanır. Emülsifikasyon yöntemi ile mikroenkapsülasyonda, çekirdek materyali duvar materyalinin bulunduğu organik solvent içine disperse edilip, ardından emülsiyon stabilizörü içeren su ya da yağ çözeltisine emülsifiye edilmektedir [33]. İçerisinde hidrofilik ve hidrofobik fazlar içeren emülsiyonlar oda sıcaklığında kararsızdır bu yüzden elverişli bir karışım sağlanması için emülgatörler ve stabilizatörlerden yararlanır [26,31]. Hazırlanan emülsiyonun karakteristik özellikleri ile enkapsülasyon verimliliği arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır [34].



Şekil 1.6. Kabuk malzemesinde kapsülün yapılandırılması [25]

Emülsiyon içerisindeki dağılmış damlacıklar (globüller) karışımın iç fazını, diğer sıvı kısım ise, dış fazını (sürekli faz) oluşturmaktadır [34]. Kabuk malzemesinde kapsülendirilmiş çekirdek (Şekil 1.6); tek katmanlı, çift-çok katmanlı ve çok çekirdekli kapsülendirilmiş ürün olarak oluşturulmaktadır [25].

Emülsifikasyon işlemi basitçe bir karıştırma işlemidir. Genellikle emülsiyon hazırlama işlemleri karıştırıcılarda yapılmaktadır [34]. Emülsiyon hazırlama için kullanılan aletler, yüksek basınçlı pompalar, rotor-stator karıştırıcılar ve ultrasonik sistemler yaygın olarak kullanılmaktadır [32].

1.5. Kaplayıcı Maddeler ve Özellikleri

Katıları, sıvıları veya farklı tür ve özelliklerdeki gazları kaplamak veya kapsüllemek için birçok madde kullanılabilir fakat bunları kullanırken gıda katkı maddelerine yönelik düzenlemeler dikkate alınmalıdır. Bununla birlikte gıda katkı maddelerine yönelik düzenlemeler, diğer kullanımına göre daha katıdır. Kozmetik kapsülleme için yaygın olarak kabul edilen farklı bileşikler, gıda endüstrisinde kullanılamaz çünkü bu maddelerin birçoğu gıda uygulamaları için "genel olarak güvenli kabul edilen" (GRAS) malzemeler olarak onaylanmamıştır [15].

Bileşenlerin kapsülendirilmesi için kullanılan malzemeler, eğer bileşenler gıdaların imalatında kullanılacaksa, gıda sınıfı olmalıdır. Kapsülleyici olarak yaygın olarak

kullanılan gıda malzemeleri, çok çeşitli doğal biyomalzemeler veya GRAS statüsü izni verilen gıda katkı maddeleri arasından seçilebilir [26].

Duvar malzemeleri, mikrokapsülleme işleminin verimliliğini etkileyen farklı kimyasal yapılara ve fizikokimyasal özelliklere sahiptir [22]. Kabuk matrislerinin yapısal ve işlevsel yönleri ve bunların çekirdekle uyumluluğu, çözünürlük, arayüz özellikleri, jelleşme kapasitesi gibi fonksiyonel özellikler ile maliyet ve kullanılabilirlik gibi ekonomik faktörler, matris seçim sürecinde dikkate alınması gereken önemli faktörlerden bazılarıdır [25].

Proteinler ve polisakkaritler; jelleşme, kalınlaşma ve/veya emülsifiye edici özellikleri nedeniyle birçok gıda sisteminde yaygın olarak kullanılan bileşenlerdir [35].

Tüm malzemeler arasında, gıda uygulamalarında kapsülleme için en yaygın şekilde kullanılan polisakkaritlerdir. Nişasta ve türevleri, amiloz, amilopektin, dekstrinler, maltodekstrinler, polidekstroz, şuruplar ve selüloz ve bunların türevleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğal ve değiştirilmiş polisakkaritlerin yanı sıra, proteinler ve lipitler de kapsülleme için uygundur [15]. Gluten, peynir altı suyu proteini, sodyum kazeinat ve jelatin gibi bazı proteinler duvar malzemesi olarak kullanılmaktadır [17].

Belirtilen kaplama maddelerinden hiçbiri tek başına optimum fayda sağlamaz fakat bunların birlikte kullanılması verimliliği daha çok artırır [24]. Tek bir kapsülleyici ajan tüm ideal özelliklere sahip olamaz; bu nedenle, taşıyıcı sistemler genellikle değişik grup kaplama maddelerinin kombinasyonlarıyla formüle edilir [2]. Örneğin hidrolize edilmiş nişastalar (glikoz, laktoz, mısır şurubu solidleri ve maltodekstrin), kapsül stabiliteilerinin geliştirilmesi için ortama ikincil kaplama materyali olarak ilave edilmektedirler [33].

Kaplayıcı maddelerde bulunması gereken bazı özellikler vardır. Bunlardan bazıları şunlardır; yüksek konsantrasyonlarda iyi reolojik özelliklere sahip olması, enkapsülasyon esnasında işlenebilirliğinin kolay olması, aktif materyali maksimum koruma sağlaması, istenen çözücülerde çözünebilmesi, gıda endüstrisinde kabul edilebilir solventlerde çözünebilir olması (örneğin su, etanol gibi), aktif çekirdek materyali ile kimyasal olarak reaktivitesi olmaması, uzun süreli bir stabilizasyon sağlaması, ucuz, kullanımının kolay ve gıda olarak tüketilebilir olmasıdır [16,36].

1.5.1. Proteinler

Proteinler, farklı amino asit sekanslarını gösteren ve peptid bağları ile bağlanmış makromoleküllerdir [36]. Farklı kimyasal grupları, amfilik özellikleri, emülsifiye etme kapasitesi, jel oluşturma yeteneği, çözünürlük, viskozite, çeşitli maddelerle kendi kendine birleşebilme ve bunlarla etkileşime girme kabiliyeti ve film oluşturma yeteneği dahil olmak üzere üstün fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikleri proteinleri, gıda endüstrisinde iyi bir kapsülleyici malzeme haline getirir. Süt proteinleri (örn. peynir altı suyu proteini izolatu ve sodyum kazeinat) ve diğer bitki proteinleri (örn. soya proteinleri, bezelye proteinleri) son yıllarda duvar malzemesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır [14,25].

Proteinler, özellikle düşük bağıl nemlerde oksijen, karbondioksit ve lipitlere karşı bariyer olma özellikleri sergiler. Hidrofilik karakterlerinden dolayı da su geçirgenlikleri fazla olur [38]. Soya proteinleri, süt proteinleri, kazeinler ve peynir altı suyu proteinleri, yumurta proteinleri veya bu proteinlerin hidrolizatları gibi gıda proteinleri son yıllarda sıklıkla kapsülleyici matrisler yani duvar malzemesi olarak kullanılırlar [25,26].

Genel olarak protein bazlı kaplamalar, hidrofilik yapıda olduğu için, tek başlarına kullanılmaları ürünlerin stabilite ve duyuşal özelliklerinde sorunlar oluşturabilmektedir. Bu nedenle bazı kaplamalar, lipitler ve karbonhidratlarla beraber kullanılırlar [37].

1.5.1.1. Peynir altı suyu (Whey) proteini

Peynir altı suyu proteinleri suda çözündükleri için gıda endüstrisinde etkili mikrokapsülleme özelliği sergiler. Peynir altı suyu proteinleri içerisinde β -laktoglobulin, α -laktalbumin gibi aktif bileşikler içerir. Bu bileşikler gıda korumasına uygun özellikler sergiler. Peynir altı suyu proteini izolatları olarak süt protein ürünleri en az %90 oranında protein içerir ve peynir altı suyu proteini konsantresi, mükemmel emülsifiye edici ve dehidrasyon özelliklerine sahiptir. Peynir altı suyu proteini konsantresi %35-75 protein içerir [17]. Peynir altı suyu proteinlerinin fiziko-kimyasal özellikleri, gıda uygulamalarında mikrokapsüllerden enkapsüle edilen maddelerin kontrollü olarak salınımında ve yeni mikrokapsüllerin oluşturulmasında mükemmel avantajlar sağlamaktadır [39].

Peynir altı suyu proteinlerinin geleneksel emülgatörlere göre daha iyi emülsifiye etme kapasitesine sahip olduğu ve β -laktoglobulin ile stabilize edilmiş emülsiyonların yerçekimi ayrışmasına karşı daha yüksek direnç gösterdiği bulunmuştur [40]. İyi mikrokapsülleme özellikleri sergilediği birçok kaynakta da belirtilmiştir [40,41]. Peynir altı suyu protein filmlerinin ve kaplamalarının bariyer özellikleri; kaplama bileşimine, kalınlığına ve substrat olarak kullanılan farklı tabakalara bağlı olarak değişebilir [37]. Peynir altı suyu proteinleri, karbonhidratla kombinasyon halinde, uçucu bileşenlerin kapsüllemesinde taşıyıcı malzeme olarak kullanılmıştır. Bu tür sistemlerde peynir altı suyu proteinleri, emülsifiye edici ve film oluşturucu bir madde olarak görev yaparken, karbonhidratlar (maltodekstrinler veya mısır şurubu katıları) matris oluşturucu malzeme olarak görev yapar [14].

Peynir altı suyu proteini içerikli kaplamalar gıdalarda nem ve gaz transferini sınırlandırmaktadır. Ayrıca, gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılabilir [37].

1.5.2.Polisakkaritler

Polisakkaritler, glikozidik bağlarla bağlanmış monosakkaritlerden oluşan kompleks karbonhidratlardır [42]. Suda çözünebilen ve molekül ağırlığı yüksek olan hidrokoloidlerdir [43]. Polisakkaritler (örn. nişasta ve nişasta ürünleri-düşük ve yüksek amilozlu nişasta, dekstrinler; nişasta olmayan polisakaritler-aljinat, pektin, karagenan, arap gamı, kitosan, selüloz türevleri, siklodekstrin) genellikle kapsülleyici matrisin bileşenleri olarak kullanılır [26]. Birçok polisakkarit ve türevleri düşük maliyette olmaları, kolay elde edilebilmeleri ve iyi film oluşturma özellikleri nedeniyle yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılmaktadır [42].

Birçok polisakkaritin hidrofilik yapısından dolayı filmlerde nem tutma kapasitesi yüzeyde gerçekleşmektedir. Polisakkarit film ve kaplamaların en önemli avantajları; yapısal kararlılıkları ve oksijen transferini azaltmalarıdır. Bu tip film ve kaplamalar karbondioksit ve oksijen geçirgenlikleri nedeniyle anaerobik ortam oluşturmada istenilen modifiye atmosfer koşullarını sağlayarak gıdanın raf ömrünü uzatabilmektedir [43]. Yararlı özelliklerinden diğeri, dağıtım sistemi için yapısal destek sağlayabilecekleri kinetik olarak metastabil amorf camsı katılar oluşturma yetenekleridir. Spesifik molekülleri bağlama yetenekleri, yapısal rollerini tamamlayıcı niteliktedir [26].

Karbonhidratların (nişastalar, maltodekstrinler gibi.) aromaları bağlama yetenekleri, çeşitlilikleri ve düşük maliyetleri kapsülleme için yaygın kullanımına sebep olur. Bunlara ek olarak, bu malzemeler, yüksek katı içeriklerinde düşük viskozite ve kapsülleyici bir ajanda bir ajanda arzu edilen iyi çözünürlük gibi özelliklere sahiptir [14].

1.5.2.1. Karragenean

Karragenean kelimesi, deniz yosununun İrlandaca'daki "küçük kaya" anlamına gelen İrlandaca adı olan karrageen'den türetilmiştir [44]. Kırmızı deniz yosunundan (Rhodophyta türleri) ekstrakte edilen bir anyonik polisakkarit ailesindedir [35].

Gıda endüstrisinde karageneanlar; koyulaştırma, jelleştirme ve stabilize etme yetenekleri gibi mükemmel fiziksel fonksiyonel özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin süzme peynirin dokusunu iyileştirmek, pudinglerin ve sütlü tatlıların viskozitesini ve dokusunu kontrol etmek gibi birçok alanda kullanılmaktadır [44]. Karageneanlar, proteinlerin izoelektrik noktasının (IEP) üstünde ve altındaki pH değerlerinde proteinlerle etkileşime giren bir grup sülfatlanmış polisakaritin parçasıdır.

Birçok çalışma, karagenean ve proteinler arasında, özellikle sütteki k-kazein miseliyle iyonik etkileşimler göstermiştir [45].

1.5.2.2. Maltodekstrin

Maltodekstrinler, mısır unundan buğday ve patates nişastasından asitler veya enzimlerle kısmen hidrolize edilmesiyle 20'nin altındaki dekstroz eşdeğeri (DE) olarak sağlanır; DE değeri, nişasta polimerinin hidroliz derecesinin bir ölçüsü olup toplam kuru ağırlıktaki susuz dekstrozun yüzdesi şeklinde ifade edilmektedir. Tatmin edici performansı, düşük nispi maliyeti nötr tadı ve aroması nedeniyle biyoaktif bileşiklerin mikrokapsüllemesinde duvar oluşturma yeteneğinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır [14,46]. Suda yüksek çözünürlükleri, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite, film oluşturma kapasitesi ve çekirdek malzemelerin oksidasyonuna karşı iyi koruma sağlaması ile karakterize edilir. Öte yandan, mikroenkapsülasyon işleminde maltodekstrin kullanımının ana dezavantajı, düşük emülsifiye etme yeteneğidir. Böylece kararlı emülsiyonlar oluşturmak için arap gamı, modifiye nişasta ve proteinler gibi diğer duvar malzemeleriyle birlikte kullanılması tercih edilir [22].

1.6. Protein Polisakkarit Kompleks

Tek bir kapsülleyici ajan tüm ideal özelliklere sahip olmadığı için taşıyıcı sistemler genellikle değişik grup kaplama maddelerinin kombinasyonlarıyla formüle edilir [2]. Çoğunlukla peynir altı suyu proteinleri olan süt proteinleri, protein-polisakkarit kompleks sistemleri çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır [47]. Polisakkarit ve protein arasındaki etkileşim esas olarak zıt yüklü makromoleküllerden oluşan elektrostatik etkileşimle oluşur [48]. Örneğin: birincil emülsiyon peynir altı suyu proteinleri gibi suda çözünür bir iyonik emülgatör ile hazırlanır. İkincil emülsiyonlar daha sonra, çok katmanlı, ara yüzey kaplamaları oluşturmak için tercihen birincil emülsiyonlardaki damlacıklardan zıt yüke sahip başka bir suda çözünür biyopolimer (örneğin, karagenan veya kitosan) eklenerek formüle edilir [40]. Bu tür sistemlerde peynir altı suyu proteinleri, emülsifiye edici ve film oluşturucu maddeler olarak işlev görürken, karbonhidratlar (maltodekstrinleri, karagenan veya mısır şurubu katıları) dolgu maddeleri ve matris oluşturucu maddeler olarak işlev görür [41].

Değişken oranlarda proteinler ve polisakkaritler kullanmak yalnızca daha yüksek kapsülleme verimliliği sağlamakla kalmaz, aynı zamanda daha düşük işletme maliyeti sağlar [49].

1.7. Yanıt Yüzey Metodolojisi (RSM)

Yanıt yüzey yöntemi, ilk olarak 1951 yılında Box ve Wilson tarafından endüstriyel deneylerde uygulanmış ve geliştirilmiştir. Box ve Behnken, 1960 yılında Box –Behnken tasarımı olarak bilinen üç seviyeli tasarımı geliştirmişlerdir. Yanıt yüzey yöntemi, istenen ürünleri elde etmek amacıyla değişkenlerin optimum değerini belirlemek için birkaç bağımsız değişkenin etkisini inceleyip, model yapıları değerlendirmek için istatistiksel ve matematiksel tekniklerin kombinasyonunu kullanmak şeklinde tanımlanabilmektedir [50].

Son yıllarda gıda proseslerinde ve özellikle ekstraksiyonda yoğun olarak kullanılan yanıt yüzey metodu (RSM) değişkenlerin optimize edilmesinde kullanılan istatistiksel bir metottur. Box-Behnken ise merkezi bileşik tasarımlar ile kıyaslandığı zaman daha ekonomik ve daha kolay olduğu için mühendislik çalışmalarında en yaygın kullanılan deneysel tasarımlardan birisidir [51,52].

Yanıt yüzey metodundaki amaç birçok değişken tarafından etkilenen tepkinin optimuma ayarlanması ve tepkiyi optimum yapan değişkenlerin değerlerinin tespit edilmesidir [53]. Farklı girdi faktörlerinin bir veya daha fazla çıktı yanıtlarını nasıl etkilediğini ortaya çıkarır [54].

Bu çalışmanın amacı, gereksiz tekrarlardan kaçınarak kısa sürede ekonomik ve optimum sonuca ulaşmayı hedeflemektedir.

1.8. Literatür Taraması

Djordjević ve arkadaşları (2007), sitral ve limonenin sodyum dodesil sülfat (SDS)-kitosan kompleksi ile stabilize edilmiş emülsiyonlarda arap zamkından daha kararlı olup olmadığını incelemişlerdir. Sitral, pH 3'te arap zamkı ile stabilize edildiğinde SDS-kitosan ile stabilize edilmiş emülsiyonlardan daha az bozunmuş olduğunu belirtmişlerdir. Fakat, SDS-kitosan ile stabilize edilmiş emülsiyonlar, sitral oksidasyon ürünü olan p-cymene oluşumunu geciktirmede arap zamkı ile stabilize edilmiş emülsiyonlardan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Limonen bozunması ve limonen oksidasyon ürünleri, limonen oksit ve karvon oluşumu, pH 3'te SDS-kitosan-'da arap zamkı ile stabilize edilmiş emülsiyonlardan daha düşük bulunduğu bildirilmiştir. Bir SDS-kitosan çok katmanlı emülgatör sisteminin sitral ve limonenin oksidatif bozulmasını önleme yeteneği, prooksidatif metalleri itebilen ve dolayısıyla prooksidan-lipid etkileşimlerini azaltabilen katyonik ve kalın bir emülsiyon damlacık arayüzünün oluşumundan kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir [9].

Kaushik ve arkadaşları (2007), yaptıkları çalışmada gam arabik, sukroz ve jelatinden oluşan çeşitli matrislerin dondurularak kurutulmasında limonenin kapsüllenmesi incelemişlerdir. En yüksek limonen miktarı (başlangıçta eklenen miktarın % 84'ü), 100 MPa'lık bir basınçta homojenize edilen emülsiyonlarda oluşturulmuştur. Uygulamalar arasında eşit oranlarda (1:1:1) kullanılarak hazırlanan arabik gam, sukroz ve jelatin matris sisteminin limonen için en ideal ve etkili sistem olduğu sonucuna varmışlardır [55].

Rungsardthong Ruktanonchai, ve arkadaşları (2011), Limon otu yağındaki iki sitral izomeri ile çeşitli tipte siklodekstrinler (CD'ler), α -CD, β -CD ve HP- β -CD arasındaki kompleksleşme, moleküler modelleme ve fizikokimyasal karakterizasyonlarını incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlarda, limon otu yağı ve CD'lerde sitraller arasında

değişen en uygun kompleks oluşumun tüm CD'ler için 1: 2 mol oranında bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Geranial (trans-sitral) ve CD arasındaki kompleks oluşum, neral (cis-sitral) ve CD arasında olduğundan daha elverişli bulmuşlardır. İnklüzyon kompleksinin termal stabilitesi, limon otu yağındaki sitralle karşılaştırıldığında sitral-CD inklüzyon kompleksinin daha yüksek bir termal stabilitesi gözlemlemiştir. Sitralin inklüzyon kompleksinden salınım süresi seyri difüzyon kontrolü ve Avrami denklemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. 50°C'de geranial (trans-sitral) ve inklüzyon komplekslerinin salınım hızı sabiti neral(cis-sitral) kompleksininkinden daha düşük olduğunu belirtmişlerdir [56].

Sosa ve arkadaşları (2011) de yaptıkları çalışmada bir disakkarit olan trehalozun püskürterek kurutma yöntemiyle sitrali kapsüllemek için taşıyıcı olarak kullanılmasını incelemiştir. Trehaloz veya sükroz ve maltodekstrin içeren matrislerde kapsüllemiş sitralin bazı fiziksel ve duyuşal özelliklerini incelemiştir. Püskürterek kurutmadan sonra sitrali tutmanın, trehaloz veya sükroz içeren matrisler için benzer olduğu sonucuna varıldığını; bununla birlikte trehaloz formülasyonlarının fiziksel stabilitesinin sükroza göre daha iyi olduğu belirtmişlerdir. Sonuç olarak trehalozun püskürtülerek kurutulmuş sitral formülasyonlarda sükrozun yerine başarılı bir şekilde kullanılabileceğini belirtmişlerdir [2].

Sosa ve arkadaşları (2014), püskürterek kurutmadan önce ve sonra emülgatör olarak modifiye nişasta ve maltodekstrin ile veya bunlar olmadan sükroz veya trehaloz içeren sitral içeren formülasyonların viskozitesini, moleküler hareketliliğini, mikro yapısını, damlacık boyutu dağılımını ve stabilitesini incelemiştir. Damlacık boyutunun ve viskozitesinin emülsiyon stabilitesini etkilediğini gözlemlemiştir. Püskürterek kurutma işlemindeki atomizasyon sırasında emülsiyon damlacıklarında bir miktar bozulma meydana gelmiştir ve bu da genel olarak daha küçük damlacık boyutları oluşmasına sebep olduğunu gözlemlemiştir. Maltodekstrin ilavesinden dolayı viskozitede bir artış olmuş ve topaklanma da bir gecikme gözlemlemiştir. Ayrıca, emülsiyonların viskozitesine bağlı olan kararlılığı elde etmek için eşik damlacık boyutu vardır. Sitralin diğer emülsiyon özellikleri, stabilitesi, aroma tutması ve duyuşal algısı sükroz veya trehaloz içeren formülasyonlar için benzer olduğunu ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte, maltodekstrin ve trehaloz karışımı, daha geniş sıcaklık aralığında ve nispeten nemli koşullarda tozun camsı durumunu koruduğunu ve sitrik aromaları

kapsüllemek için taşıyıcı formülasyonda bir bileşen olarak umut verici performans gösterdiğini belirtmişlerdir [57].

Tian ve arkadaşları (2017), emülgatörler olarak jelatin ve Tween 20 karışımı (kütle oranı 3:1) içeren sitral nanoemülsiyonları hazırlayıp asidik sistemde sitralin stabilitesini incelemişlerdir. Tween 20 miktarı arttığında, sitral emülsiyonların damlacık boyutu önemli ölçüde azalırken; jelatin ilavesinin sitralin stabilitesini arttırdığını belirtmişlerdir. Özellikle, jelatin/Tween 20'nin 3:1 (kütle oranı) karışımı, sitralin asit katalizli bozunmasına karşı en iyi koruyucu etkiyi göstermiştir. Bu bulgu, Tween 20'nin, hidrojen bağı yoluyla emülsiyondaki jelatinin peptit bağına ve protonlanmış amino gruplarına bağlanabilen polioksietilen zincirlerine atfedilmiştir. Böylece iyonik olmayan yüzey aktif cismi olan proteinin sitrali asidik ortamlara karşı etkili bir şekilde çözebildiği ve stabilize edebildiği sonucuna varmışlardır. Jelatin ve Tween 20 karışımının, asidik koşullar altında sitralin stabilitesini arttırdığını ve gıda endüstrisinde asidik ortamlar altında sitralin bozulmasını önlemek için etkili bir emülgatör olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir [1].

Ghasimi ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada portakal kabuğu yağını pektin-peynir altı suyu proteini nanokompleksleri tarafından nanokapsüllemiştir. Portakal kabuğu yağı içeren optimum nanokompleks süspansiyonlar stabilite, viskozite ve renge göre belirlendikten sonra, üç farklı pH değerinde (3, 6 ve 9) formüle ederek ve dondurarak kurutma ile toz haline getirmişlerdir. Nanokomplekslerin boyut ve zeta potansiyelinin analizi, en küçük parçacıkların pH = 6'da oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Tozların kapsülleme verimliliği pH = 3, 6 ve 9'daki sırasıyla % 88, % 84 ve % 70 ve ters doğrusallık olduğunu; kapsülleme verimliliği ile renk indeksi (b^*) arasında bağlantı olduğunu belirtmişlerdir. Nanokompleks tozların mikroyapısı ve morfolojisi SEM ve AFM sonuçları pH = 3'te daha küresel parçacıkların oluştuğunu gözlemlemişlerdir. FTIR analizi, 991 cm^{-1} de keskin bir bant ortaya çıktığı için peynir altı suyu proteinleri ile pektin arasında kimyasal bir reaksiyon ve bağ oluşumu olduğunu belirtmişlerdir. Portakal kabuğu yağı içeren en güçlü ve en zayıf nanokomplekslerin sırasıyla pH = 3 ve pH = 9'da oluştuğunu göstermişlerdir [47].

Afzal ve arkadaşları (2018), yaptıkları çalışmada kitosanın sodyum aljinatlı saf ve kompozit hidrojelini çeşitli pH değerlerinde sentezlemişler ve reoloji, IR-spektroskopi

ile karakterize etmişlerdir. Kitosan, nötral ve bazik pH değerlerinde jelleşme gösterirken, sodyum aljinat tüm pH değerlerinde çözelti halinde kaldığını belirtmişlerdir. Karıştırma ağırlığı, fraksiyon oranı ve pH'ın ayarlanmasıyla, modüle edilmiş yapısal dinamiklere ve viskoelastikliğe, mekanik dayanıklılığa ve kapsülleme kapasitesine sahip bir dizi hidrojel elde etmişlerdir. Asidik pH' ta, daha yüksek bir aljinat fraksiyonu hidrojellerin esnekliğini arttırırken, bazik pH'ta daha fazla kitosan yüzdesi hidrojel stabilize ettiğini belirtmişlerdir. En güçlü kompozit hidrojeller asidik pH'ta elde edilmiş ve sentetik ortamın artan pH'ında jel kuvveti azalttığını belirtmişlerdir. Sentezlenen hidrojeller, sitralle kapsülleme kapasiteleri açısından incelemişlerdir. Saf kitosan hidrojelleri maksimum kapsülleme kapasitesi göstermiş olup kapsülleme kapasitesini arttırmıştır, bunu nötr pH'da hazırlanan kompozit hidrojellerin izlediğini belirtmişlerdir [11].

Ghasemi ve arkadaşları (2018), D-limonen'in, farklı pH değerlerinde (3, 6 ve 9) peynir altı suyu proteinleri (%4, %6 ve %8 w/w) ve pektin (%0.5, %0.75 ve %1 w/w) ile nanoenkapsüllemişlerdir ve pH = 3'te % 4 peynir altı suyu ve % 1 pektin ile hazırlanan nanokomplekslerin en düşük stabiliteye ve en yüksek viskoziteye ve optimum uygulama olarak seçilen en yüksek L^* değerine sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Atomik kuvvet mikroskobu görüntüleri, peynir altı suyu-pektin nanokomplekslerinin morfolojisi incelenmiş ve ortalama 100 nm büyüklüğünde küresel nanopartiküller oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Kapsülleme verimliliği yaklaşık %88 olarak belirlenmiştir. D-limonen yüklü üretilen nanokompleksler için dinamik ışık saçılmasının sonuçları, parçacık boyutunu yaklaşık 160 nm ve zeta potansiyelini -0.53 mV olduğunu ortaya koymuşlardır. Peynir altı suyu proteini ve pektin arasındaki 4'e 1'lik bir oranın en yüksek verimde kompleks oluşumu sağladığı bulunmuştur [58].

Wang ve arkadaşları (2019), yaptıkları çalışmada sitralin su içi emülsiyonlarını, % 2.5 ve % 5.0 (w / w) olmak üzere iki farklı uçucu yağ konsantrasyonu ile hazırlayıp, daha sonra aynı miktarda maltodekstrin (% 20) varlığında püskürterek kurutmuşlardır. Mikrokapsülleri iki farklı emülgatör bileşimi ile hazırlanmışlardır: tek başına sodyum kazeinat ile stabilize edilen tek katmanlı mikrokapsüller ve sodyum kazeinat ve pektin ile stabilize edilen çok katmanlı mikrokapsüller olarak. Çok katmanlı mikrokapsüller için kapsülleme verimliliğini (örneğin, %99,6 sitral için $0,4 \pm 2,5$), tek katmanlı kapsüllerden (örneğin %78,6 sitral için $0,6 \pm 2,5$) daha yüksek bulmuşlar ve bu da ek pektin tabakasının sitral konsantrasyonu ne olursa olsun sprey kurutma işlemi sırasında

sitralleri koruyabildiğini doğruladığını göstermişlerdir. Ayrıca, elde edilen mikrokapsüllerin antibakteriyel aktivitesini dört bakteri suşunda ölçmüş olup antibakteriyel aktivitesinin hem sitral konsantrasyona hem de ara yüz membran kompozisyonuna önemli ölçüde bağlı olduğunu göstermişlerdir. Sitral damlacıklarını çevreleyen iki tabakanın varlığı, kapsüllenmiş sitralin ilerleyici ve kontrollü bir şekilde salınmasına neden olabileceğini belirtmişlerdir [59].

Farouk A. ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada, aroma bileşiklerinin emülsiyonlarını (linalool, sitral, portakal yağı, alil kaproat ve izoamil asetat), arap zamkı, sodyum kazeinat ve maltodekstrin kullanılarak farklı konsantrasyonlarda taşıyıcılar olarak hazırlayıp sprey kurutucu ile toz halinde kapsüllemişlerdir. Kapsülleme verimliliği, viskozite, emülsiyon stabilitesi ve nem dahil olmak üzere fiziksel özellikler, sprey kurutma işleminden önce ve sonra incelenmişlerdir. Ayrıca, toz parçacıklarının enzimatik olmayan kahverengileşmesinin (NEB) morfolojisi ve kapsamı, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve kromametre kullanarak ölçmüşlerdir. Kapsüllemenin lezzet tutma ve kimyasal bileşim üzerindeki etkisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanarak değerlendirmişlerdir. Portakal yağı maksimum tutma verimliliğini (% 84.5-97.9) gösterirken, izoamil asetat kurutma sırasında (% 44.4-72.5) diğer uçucu bileşiklere kıyasla daha az tutulduğunu gözlemlemişlerdir. Arap zamkı konsantrasyonunun artırılması, tüm aroma bileşikleri için en yüksek tutulmayı sağladığını ve spreyle kurutulmuş tozun viskozitesini ve emülsiyon stabilitesini arttırdığını belirtmişlerdir. SEM'e göre, maltodekstrinin ana kapsülleme maddesi olarak varlığı, iyi bir küresel şekle ve pürüzsüz bir yüzeye sahip birkaç homojen kapsülün oluşumunu sağladığını gözlemlemişlerdir. Enzimatik olmayan kahverengileşme (NEB), sitral ve turuncu yağlar içeren kapsüllenmiş numunelerde yoğun olarak gözlenirken, en az kahverengileşme izoamil asetat mikrokapsüllerinde meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Son olarak duvar malzemesi formülasyonunun, gıda veya nutrasötik toz premikslerinde kullanılabilen kapsüllenmiş tatların tutulmasını, morfolojisini ve fiziksel özelliklerini etkilediğini belirtmişlerdir [60].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Pınar'dan yağsız süt tozu proteini ve peynir altı suyu proteini konsantresi sağlanmıştır.

Karragenan Alfasol'den sağlanmıştır.

Sitral Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır.

Dekstroz eşdeğeri 12 olan Maltodekstrin (MD), Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır.

Tüm deneylerde deiyonize su kullanılmıştır.

Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

2.2. Metod

2.2.1. Biyopolimer solüsyonların hazırlanması ve deneysel tasarım

Farklı konsantrasyonlarda karragenan (% 0.5-1) deiyonize suda çözündürülerek 100 ml çözelti hazırlandı. Aynı zamanda 100 mL çözelti elde etmek için 4, 5 ve 6 g peynir altı suyu proteini konsantresi (WPC) ve yağsız süt tozu (SP) tozunun deiyonize suya dağıtılmasıyla WPC ve SP farklı sulu çözeltileri hazırlandı. 10 g MD 100 mL deiyonize suda çözülerek 100 mL maltodekstrin solüsyonu hazırlandı. Tüm çözeltiler, 60 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda (IKA, Almanya) karıştırıldı ve hidrasyonu tamamlamak için gece boyunca karanlık ortamda 4°C' de bekletildi (Şekil 2.1) [61,62].



Şekil 2.1. Karagenan-maltodekstri-peynir altı suyu proteini biyopolimer solüsyonları

Bu çalışmada dört değişkenin (A,B,C,D) optimum seviyelerini belirlemek için Box-Behnken Design (BBD) (Design Expert, Trial Version 7, Stat-Ease Inc. Minneapolis, MN) kullanılarak Yanıt Yüzey Metodolojisi (RSM) kullanıldı.

A, pH; B, protein konsantrasyonu; C, polisakkarit; D, protein tipini göstermekte olup bağımsız değişkenler üç seviyede (-1, 0, +1) incelenmiştir. BBD için deneysel tasarım Tablo 2.1' de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Box-Behnken Tasarımı

Örnek	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Faktör 4
	A:pH	B: protein kons.	C: karagenan	D: protein türü
1	3	5	0,5	peynir altı suyu proteini kons.
2	5,5	4	0,5	yağsız süt tozu
3	5,5	4	0,5	peynir altı suyu proteini kons.
4	5,5	5	0,75	yağsız süt tozu
5	5,5	6	0,5	yağsız süt tozu
6	8	5	1	yağsız süt tozu
7	8	5	0,5	yağsız süt tozu
8	3	4	0,75	yağsız süt tozu
9	8	5	0,5	peynir altı suyu proteini kons.
10	3	4	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
11	8	6	0,75	yağsız süt tozu
12	5,5	5	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
13	3	5	0,5	yağsız süt tozu
14	5,5	5	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
15	3	5	1	peynir altı suyu proteini kons.
16	5,5	4	1	yağsız süt tozu
17	8	4	0,75	yağsız süt tozu
18	5,5	5	0,75	yağsız süt tozu
19	5,5	5	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
20	5,5	5	0,75	yağsız süt tozu
21	5,5	6	1	peynir altı suyu proteini kons.
22	5,5	4	1	peynir altı suyu proteini kons.
23	5,5	6	1	yağsız süt tozu
24	8	4	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
25	3	5	1	yağsız süt tozu
26	3	6	0,75	yağsız süt tozu
27	8	5	1	peynir altı suyu proteini kons.
28	5,5	5	0,75	yağsız süt tozu
29	5,5	6	0,5	peynir altı suyu proteini kons.
30	3	6	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
31	5,5	5	0,75	peynir altı suyu proteini kons.

Tablo 2.1. Box-Behnken Tasarımı (Devamı)

32	5,5	5	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
33	8	6	0,75	peynir altı suyu proteini kons.
34	5,5	5	0,75	yağsız süt tozu

2.2.2. Sitral yüklü Whey-Karreegenan-MD nanokomplekslerinin hazırlanması

Hazırlanan peynir altı suyu proteini, karragenan, maltodekstrin solüsyonları ayrı ayrı aynı hacimde karıştırılarak manyetik karıştırıcıda 60 dk boyunca karıştırıldı. Daha sonra toplam katların %10'u oranında Tween 20 (3.5114 gr) ilave edildi. Toplam sıvısının %2.5'ı kadar da sitral (7.5 mL) ilave edildikten sonra 10 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Toplam solvent 100 mL olarak 3 ayrı parçaya ayrılarak her birine 60 amplitude 0.5 genlikte 8 dakika ultrases UP400S (Hielscher Ultrasound Technology, UP 400S, Almanya) uygulandı (uygulama esnasında çözeltinin çok ısınmaması için sıcaklık buz dolu bir kap yardımıyla kontrol edildi). Ultrasound uygulamaları için titanyum prob kullanılmış olup uygulama şartları için 14 mm ve çapı olan prob 24 kHz de 8 dk işlem uygulanmıştır. Ultrasound işlemi yapılan örnekler Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Çözeltilerin pH'sı 0.1 N NaOH ve 0.1 N HCl kullanılarak pH değerleri 3, 6, 9 olarak ayarlandı [63,64].



Şekil 2.2. Ultrasound uygulaması yapılan örnekler

2.2.3. Nanokompleks çözeltilerin renk ölçümü

Örneklerin renk değerleri otomatik kolorimetri (Lovibond RT Series Reflectance Tintometer; Lovibond, Amesbury, UK) kullanılarak ölçülmüştür. Lovibond tintometer üç değer vermektedir : L^* , a^* ve b^* .

L^* değerleri beyaza kadar siyah seviyesini x (0-100) seviyesini ölçer,

a^* yeşile kadar kırmızı seviyesini (+ = kırmızı ve - = yeşil),

b^* sarıya kadar mavi seviyesini (+ = sarı ve - = mavi) gösterir. Örneklerin renk ölçümü 5 kez tekrarlanmıştır. Şekil 2.3'te renk ölçüm cihazında ölçümü yapılan örnek verilmiştir.



Şekil 2.3. Renk ölçüm cihazı ve ölçüm aşaması

2.2.4. Nanokompleks çözeltilerin viskozite ölçümü

Çözeltilerin viskozitesi, viskozimetre (Haake Viscotester C, Thermo Fisher Scientific, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür. Her bir pH (3, 6, 9) değerleri için 4 ayrı ölçüm gerçekleştirilmiştir.

2.2.5. Nanokompleks çözeltilerin stabilite ölçümü

Stabilitate analizi için her bir pH değerlerinden (3, 6, 9) ikişer tane 10 mL nanokompleks solüsyon (birincil nanokompleks hacmi) santrifüje tabi tutulmuştur ve daha sonra stabil nanokompleks hacmi, dereceli bir silindir tarafından belirlenmiştir. Daha sonra stabilite yüzdesi aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır. Nano-komplekslerin stabilitesini

ölçmek için, 26,000 g ve 20°C'de 60 dk boyunca (High-Speed Refrigerated Centrifuge CR22N) santrifüj uygulanmıştır [65, 66].

$$\text{Kararlılık (\%)} = \left(\frac{\text{nanokompleks hacmi sabit kalan}}{\text{birincil nanokompleks hacmi}} \right) * 100$$

2.2.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü

Hazırlanan nanokomplekslerden pH (3, 6, 9) 2 mL tüplere alınarak parçacık boyutu ve zeta potansiyeli (yüzey elektrik yükü) dinamik ışık saçılımı (DLS) cihazı (Zeta Sizer, Malvern Instruments, Malvern, BK) kullanılarak ölçülmüştür. Birden fazla saçılmayı önlemek için numuneler damıtılmış suyla 25°C sıcaklıkta seyreltilmiştir, ortalama parçacık boyutu (hacim,sayı ve yoğunluk ortalama çapına göre) ve zeta potansiyeli belirlenmiştir [47].

2.2.7. Sitral yüklü nanokomplekslerin dondurularak kurutulması (Liyofilizasyon)

Optimum noktalarda hazırlanan nano kompleksler, -20°C de 48 saat süreyle poşetlerde donduruldu. Dondurulmuş numuneler dondurarak kurutucu (FDB5503 Dondurarak kurutucu; Operon , Güney Kore) kullanılarak kurutulmuştur. Dondurarak kurutulmuş numuneler +4°C'de hava almayacak şekilde saklanmıştır [67].

2.2.8.Sitralin kapsüllenme verimliliği

%Verimliliği (EE), sulu yüzey aktif madde çözeltisindeki serbest sitral içeriği (kapsüllenmemiş sitral) belirlenerek hesaplanmıştır.

Kapsüllenmiş nanokompleks tozlardaki sitralin verimliliğini ölçmek için: her bir örnekten (pH 3, 6, 9) 1 gr toz tartılarak 5 mL metanol içerisinde çözünene kadar 3 dk vortekslendikten sonra 3 saat karanlıkta bekletilmiştir. 3 saat sonunda bu örneklerin her birinden 0.025 mL alınarak 10 mL'lik balon jojeye aktarılarak metanolla 10 mL'ye tamamlandıktan sonra 238 nm'de spektrofotometrik olarak 3 paralelli ölçümleri yapılmıştır [68].

$$\%EE = \frac{\text{Toplam sitral ağırlığı} - \text{serbest sitral ağırlığı}}{\text{toplam sitral ağırlığı}} \times 100$$

2.2.9. Nanokompleks olarak hazırlanan tozların fizikokimyasal özellikleri

2.2.9.1. Kütle yoğunluğu

Örnek tozlardan pH 3, 6, 9'dan 2 gr tartıldı ve 25 mL'lik mezüre yerleştirilerek elle 100 kere vurulmuştur ve kütle yoğunluğu mezürde kaplanmış hacim arasındaki oran hesaplanmıştır [61].

2.2.9.2. Mutlak yoğunluk

Tozların mutlak yoğunluğunu hesaplamak için piknometre ile yer değiştirme yöntemi uygulanmıştır [69].

2.2.9.3. Gözeneklilik

$$\varepsilon = 1 - \left(\frac{\rho_a}{\rho_b} \right)$$

ρ_a = mutlak yoğunluk, ρ_b = kütle yoğunluğu

2.2.9.4. Çözünürlük

Çözünürlüğü ölçmek için her bir örnekten (pH 3, 6, 9) 1 g toza 100 mL distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcı ile 385rpm'de 5 dk karıştırıldıktan sonra 3000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında çözeltinin üst kısmından 25 mL alınarak petriye aktarılmış ve 105°C sıcaklıktaki etüvde 5 saat süreyle bekletildikten sonra soğuması için desikatöre alınmıştır. Çözünürlük yüzdesi suda çözünen toz miktarına göre belirlenmiştir [47].

2.2.9.5. Nanokompleks tozun renk analizi

Örneklerin renk değerleri otomatik kolorimetri (Lovibond RT Series Reflectance Tintometer; Lovibond, Amesbury, UK) kullanılarak ölçülmüştür. Lovibond tintometer üç değer vermektedir: L^* , a^* ve b^* .

L^* değerleri beyaza kadar siyah seviyesini x (0-100),

a^* yeşile kadar kırmızı seviyesini (+ = kırmızı ve - = yeşil),

b * sarıya kadar mavi seviyesini (+ = sarı ve - = mavi) gösterir. Örneklerin renk ölçümü 5 kez tekrarlanmıştır.

2.2.9.6. FT-IR analizi

Nanokompleks tozlardan her bir örnekten pH 3, 6, 9 bir miktar alınarak yapı analizi Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir. Ayrıca örneklerin IR spektrumları, zayıflatılmış toplam yansıma tekniği kullanılarak FTIR spektrofotometresi (Spectrum RX1, PerkinElmer, US) ile kaydedilmiştir. Yapı analizi için önce toz numuneler KBr tozu ile 1-10 oranlarında karıştırılmış ve spektrum elde edilmeden önce bir diske bastırılmıştır. Spektrum, iletim modunda 400 ila 4500⁻¹ cm aralığında taranmıştır [70].

2.2.9.7. Nanokomplekslerin morfolojik karakterizasyonu

Nanokompleks tozlardan her bir örnekten pH 3, 6, 9'dan bir miktar alınarak sitral yüklenen tozların morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Vega II, Tescan, Czech Republic) ile ölçülmüştür. Toz, temiz bir cam plaka üzerine yayıldı ve daha sonra yüksek vakum altında ince bir altın tabaka ile kaplanarak gözlemlenmiştir. Temsili SEM görüntüleri tanımlanmıştır [71].

Nano-komplekslerinin morfolojik karakterizasyonu ve parçacık boyutu ve boyut dağılımı için atomik kuvvet mikroskobu (AFM) (DualScope™ DS95-50, DME, Danimarka) kullanılmıştır. AFM görüntüleme için numuneler, temiz bir cam yüzeye bir damla seyreltilmiş nano-kompleks süspansiyonu (0.05 mg/mL) uygulanarak hazırlanmış, yayıldı ve 30 dakika oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra AFM ile görüntü analizi yapılmıştır [71,72].

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Optimum Kaplama Materyalinin Oluşturulması

İstatistiksel analizlerde herhangi bir bağımsız değişkenin proses üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, bağımlı değişkenler (cevaplar) aracılığı ile yapılmaktadır. Bundan dolayı değişkenlerin doğru şekilde belirlenmesi gerekir. Öncelikle yapmış olduğumuz bu çalışma üç aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada deneysel tasarım oluşturup optimum seviye belirlendi, ikinci aşamada belirlenen bu optimum seviyeden biyopolimer solüsyonları oluşturup analizleri yapıldı, üçüncü aşamada ise oluşturulan nanokompleks olarak hazırlanan tozların fizikokimyasal analizleri yapıldı.

İlk olarak oluşturduğumuz bu modelde Yanıt Yüzey Metolojisi Box-Behnken Design (Desing Expert 7.0 Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN) tasarımı kullanılmıştır. Dört değişkenin (A:pH , B: protein konsantrasyonu, C:karagenan konsantrasyonu, D: protein tipi) ve üç seviyede (-1, 0, 1) incelenmiştir ve üç yanıt (Y₁:viskozite, Y₂: L* değeri, Y₃:stabilite (%)) Box-Behnken deneysel tasarımı kullanılarak deney düzeneği oluşturulmuştur. Box-Behnken Deneysel tasarımı Tablo 3.1'de verilmiştir. Bütün cevapların R² değerleri 0,93-0,95 arasında bulunmuş olup modelin yüksek doğruluk gösterdiğini ortaya koymaktadır (R² değeri için 1'e yakın değerlerin elde edilmesi iyi bir doğruluk sonucudur). R²'in yüksek olması regresyon model uyumunun iyi olduğunu göstermektedir. Düzeltilmiş regresyon katsayısı (Adj-R²) bütün cevaplar için kabul edilebilir bulunmuş olup, deneysel ve öngörülen değerler arasında yüksek derecede bir korelasyon olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.1. Optimizasyon için Box-Behnken Tasarımı

Run	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Faktör 4	Cevap 1	Cevap 2	Cevap 3
	A:pH	B:Protein kons.	C: Karragenean	D:Protein tipi	Viskozite (mPa.s)	L*	Stabilite(%)
1	3.0	5	0.5	whey protein conc	16,76	87,38	82
2	5.5	4	0.5	skimmilk powder	14,2	80,95	81
3	5.5	4	0.5	whey protein conc	16,5	80,436	81
4	5.5	5	0.75	skimmilk powder	25,36	73,206	81
5	5.5	6	0.5	skimmilk powder	13,5	75,732	88
6	8.0	5	1.0	skimmilk powder	19,6	70,12	90
7	8.0	5	0.5	skimmilk powder	13,6	74,15	89
8	3.0	4	0.75	skimmilk powder	22,83	88,12	84
9	8.0	5	0.5	whey protein conc	16,033	75,108	92
10	3.0	4	0.75	whey protein conc	21,033	88,706	84
11	8.0	6	0.75	skimmilk powder	21,5	75,786	97
12	5.5	5	0.75	whey protein conc	24,53	72,63	88
13	3.0	5	0.5	skimmilk powder	21,7	84,302	81
14	5.5	5	0.75	whey protein conc	23,27	73,63	87
15	3.0	5	1.0	whey protein conc	21,23	86,92	83
16	5.5	4	1.0	skimmilk powder	17,5	76,734	86
17	8.0	4	0.75	skimmilk powder	21,1	70,206	84
18	5.5	5	0.75	skimmilk powder	24,8	70,8	82
19	5.5	5	0.75	whey protein conc	23,47	74,2	85
20	5.5	5	0.75	skimmilk powder	26,3	70,206	85
21	5.5	6	1.0	whey protein conc	20,47	78,536	91
22	5.5	4	1.0	whey protein conc	16,77	77,024	92
23	5.5	6	1.0	skimmilk powder	20,9	76,998	91
24	8.0	4	0.75	whey protein conc	20,9	72,17	92
25	3.0	5	1.0	skimmilk powder	25,2	80,952	84
26	3.0	6	0.75	skimmilk powder	26,86	82,832	87
27	8.0	5	1.0	whey protein conc	22,5	70,136	95
28	5.5	5	0.75	skimmilk powder	24,1	71,2	80
29	5.5	6	0.5	whey protein conc	15,76	75,672	87
30	3.0	6	0.75	whey protein conc	28,33	81,006	85
31	5.5	5	0.75	whey protein conc	25,33	71,636	86
32	5.5	5	0.75	whey protein conc	26,57	72,66	85
33	8.0	6	0.75	whey protein conc	25,7	68,952	96
34	5.5	5	0.75	skimmilk powder	24,8	72,58	84

Numunelerin pH'sı 3 ila 8, protein konsantrasyonu 4 ila 6, karragenean konsantrasyonu 0,5 ila 1 arasında değişmiştir. Bağımsız değişkenlerin tipi ve seviyeleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Bağımsız değişkenler ve seviyeleri

Bağımsız değişken	Sembol	Seviye		
		-1	0	1
pH	A	3	5	8
Protein Konsantrasyonu (%)	B	4	5	6
Karragenean Konsantrasyon (%)	C	0,5	0,75	1
protein tipi	D	Peynir altı suyu protein kons.	-	Yağsız süt tozu

3.2. Viskozite

Viskozite için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu Tablo 3.3' te verilmiştir. ANOVA sonuçlarına göre model önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). pH, protein konsantrasyonu, karragenan konsantrasyonları viskoziteyi önemli ölçüde etkilediği görülmüştür ($p < 0.01$). Ancak numunelerin viskozitesinde protein tipinin önemli olmadığı bulunmuştur.

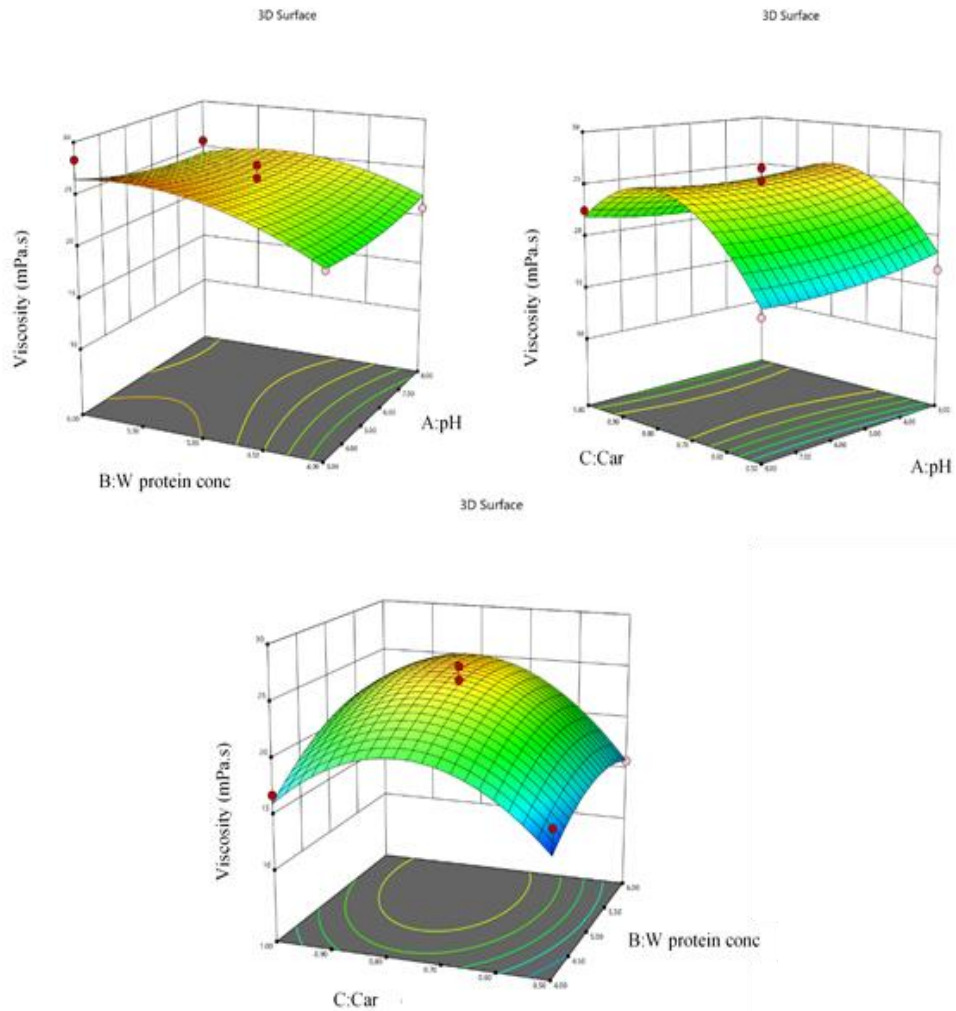
Tablo 3.3. Viskozite için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalamanın karesi	F Değeri	p-değeri Prob > F
<i>Model</i>	528.90	13	40.68	21.55	< 0.0001
A-pH	33.09	1	33.09	17.53	0.0005
B-protein kons.	30.77	1	30.77	16.29	0.0006
C-Karrageenan	81.53	1	81.53	43.18	< 0.0001
D-protein tipi	0.05	1	0.05	0.03	0.8722
AB	4.69	1	4.69	2.49	0.1306
AC	2.53	1	2.53	1.34	0.2609
AD	21.55	1	21.55	11.41	0.0030
BC	9.12	1	9.12	4.83	0.0399
BD	3.93	1	3.93	2.08	0.1647
CD	1.15	1	1.15	0.61	0.4450
A²	3.59	1	3.59	1.90	0.1829
B²	32.83	1	32.83	17.39	0.0005
C²	295.96	1	295.96	156.75	< 0.0001
Kalıntı	37.76	20	1.89		
Model uyumsuzluğu	27.62	12	2.30	1.82	0.2021
Saf hata	10.14	8	1.27		
Cor Total	566.67	33			

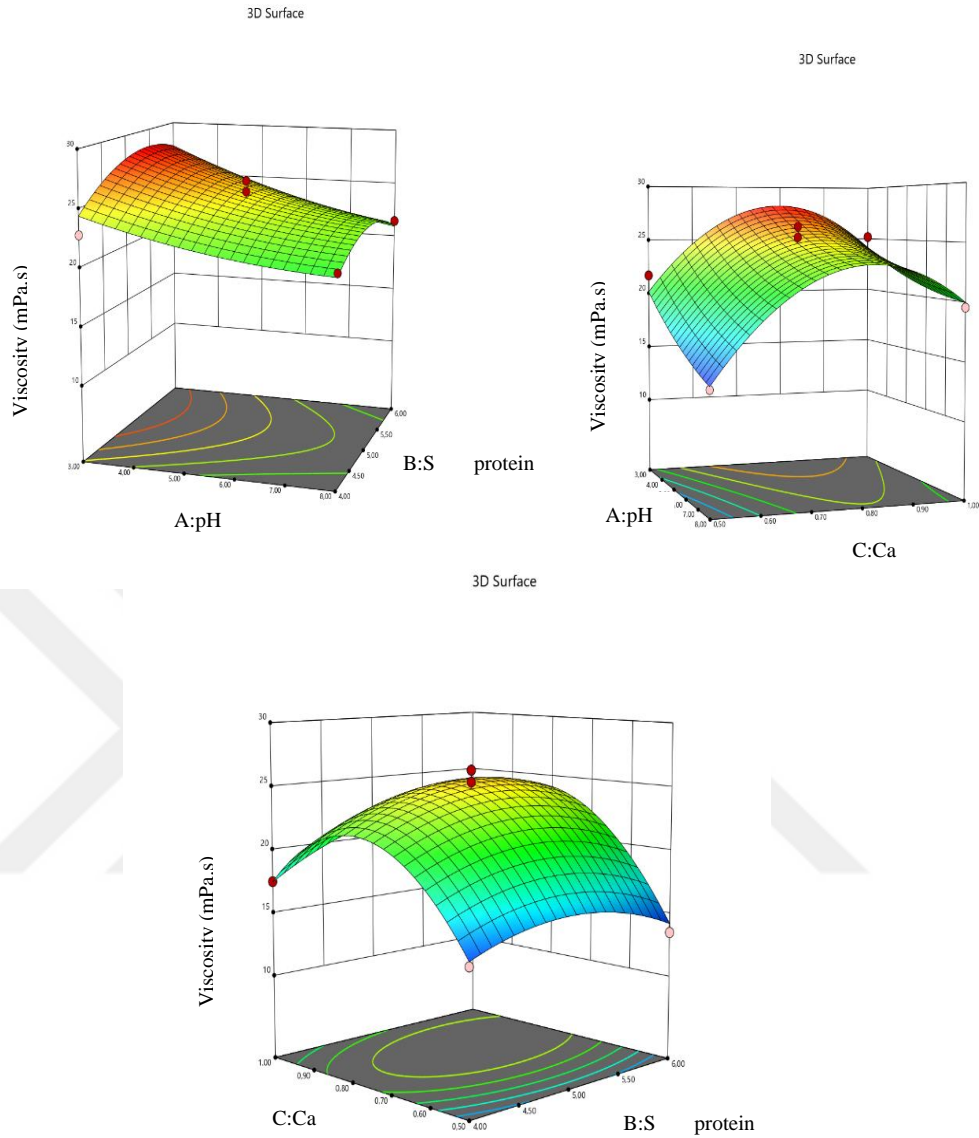
Tablo 3.4. Viskozite için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar

Std. hata	1.374	R^2	0.933
Ortalama	21.441	Düzeltilmiş R^2	0.890
C.V. %	6.409	Tahmini R^2	0.760
PRESS	135.985	Adeq Precision	15.759

Vizkozite için yazılım programı tarafından üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir. Bu grafikler Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de verilmiştir. Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 incelendiğinde viskozite üzerinde protein tipinden etkilenmediği fakat karragenean miktarı artması viskozitede artışa sebep olduğu tespit edilmiştir ve pH arttıkça vizkozitede düşüş gerçekleşmiştir.



Şekil 3.1. pH, protein konsantresi (Whey) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin viskozite değerleri



Şekil 3.2. pH, yağsız süt tozu protein konsantresi(skimmilk) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin viskozite değerleri

Ghasemi ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada en düşük viskozite değerinin elektrostatik hızda reaksiyona girebilen biyopolimerler arasındaki en iyi çekimleri gösteren işlemde en yüksek olduğunu bununda asidik pH değerleri ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [47]. Aslan (2021) yaptığı çalışmada yayıkaltı bileşenleri ve buğday ruşeym yağı kullanılarak farklı oranlarda hazırlanan emülsiyonların viskozite değerlerinin buğday ruşeym yağı arttıkça viskozite değerlerinin de paralel olarak arttığı belirlenmiştir [27].

Afzal ve arkadaşları (2018) kitosanın pH'a duyarlı hidrojellerinin ve bunun sodyum aljinatlı bileşik hidrojellerinin dinamiği, reoloji ve spektroskopi ile incelemişlerdir ve kitosanın viskozitesi artarken, aljinatın viskozitesi pH'ın artmasıyla azaldığını gözlemlemişlerdir. İki polimerin kompozit hidrojelleri, pH'ın yanı sıra polimerlerin karışım oranının bir fonksiyonu olarak değişken viskoelastik ve yapısal çeşitlilik gösterdiği belirtmişlerdir. Kitosanın ağırlık yüzdesi arttıkça, azalan asidik pH'ta sert ve daha elastik kompozit hidrojeller elde ettiklerini belirtmişlerdir [11].

3.3. L^* değeri

L^* değeri için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu Tablo 3.5' te verilmiştir. Yapılan ANOVA analiz sonuçlarına göre model <0.0001 p değeri ile etkin bulunmuştur. ($p<0.01$) Aynı analiz sonucunda Tablo 3.6'da R^2 değeri 0.951 olarak ölçülmüştür. Tablo 3.5 incelendiğinde model uyumsuzluğu da önemsiz olduğu görülmüştür ve pH, protein konsantrasyonunun L^* değeri üzerindeki etkisi çok önemli bulunmuştur.

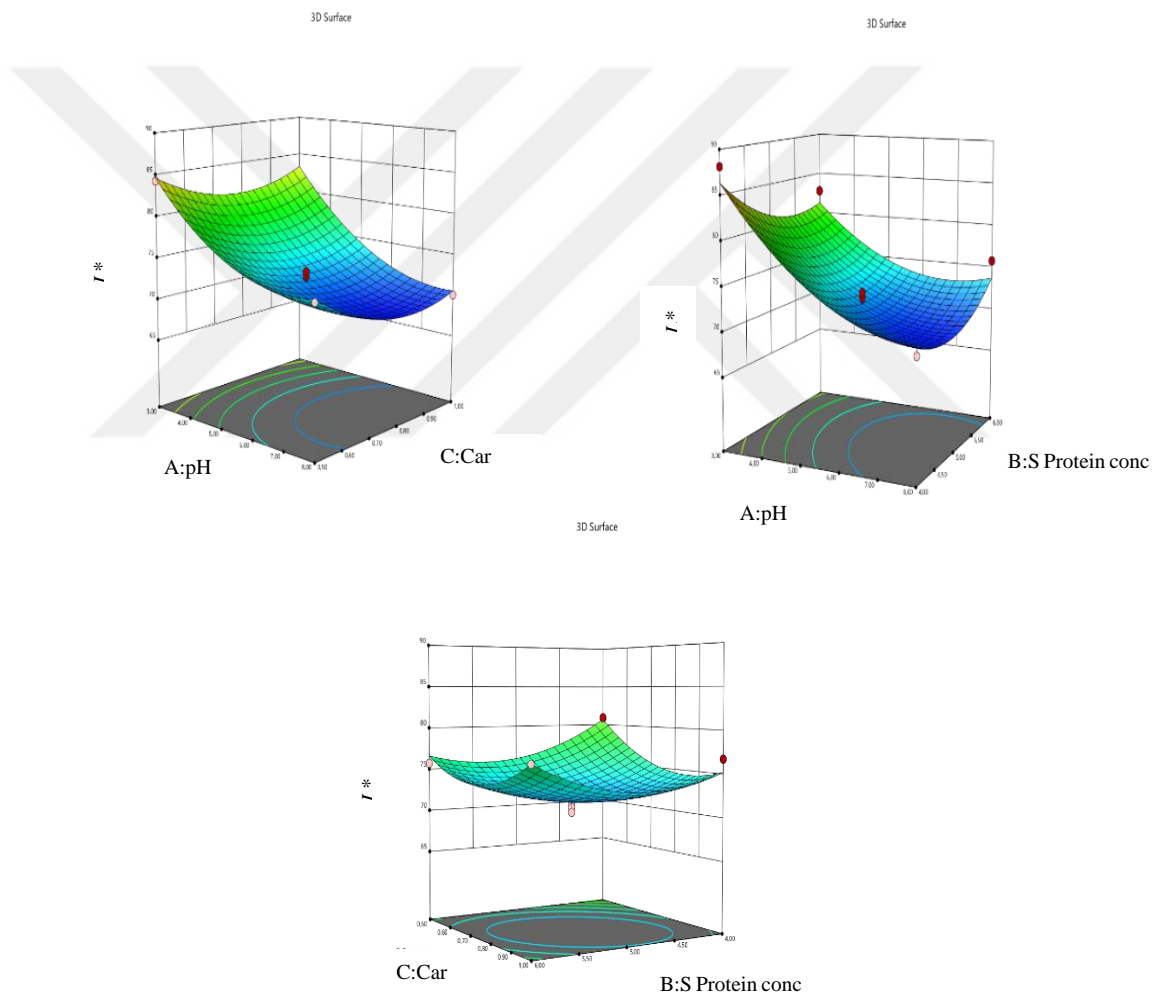
Tablo 3.5. L^* değeri RSM Box-Behnken ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama karesi	F değeri	p -değeri Prob > F
Model	1037.88	13	79.84	29.98	< 0.0001
A-pH	670.68	1	670.68	251.85	< 0.0001
B-protein kons.	22.16	1	22.16	8.32	0.0092
C-Karrageenan	16.62	1	16.62	6.24	0.0213
D-protein tipi	4.19	1	4.19	1.57	0.2244
AB	29.45	1	29.45	11.06	0.0034
AC	3.37	1	3.37	1.27	0.2740
AD	8.56	1	8.56	3.21	0.0882
BC	17.28	1	17.28	6.49	0.0192
BD	5.65	1	5.65	2.12	0.1607
CD	1.18	1	1.18	0.44	0.5130
A²	105.26	1	105.26	39.53	< 0.0001
B²	59.67	1	59.67	22.41	0.0001
C²	67.12	1	67.12	25.21	< 0.0001
Kalıntı	53.26	20	2.66		
Model uyumsuzluğu	43.04	12	3.59	2.81	0.0753
Saf hata	10.22	8	1.28		
Cor Total	1091.14	33			

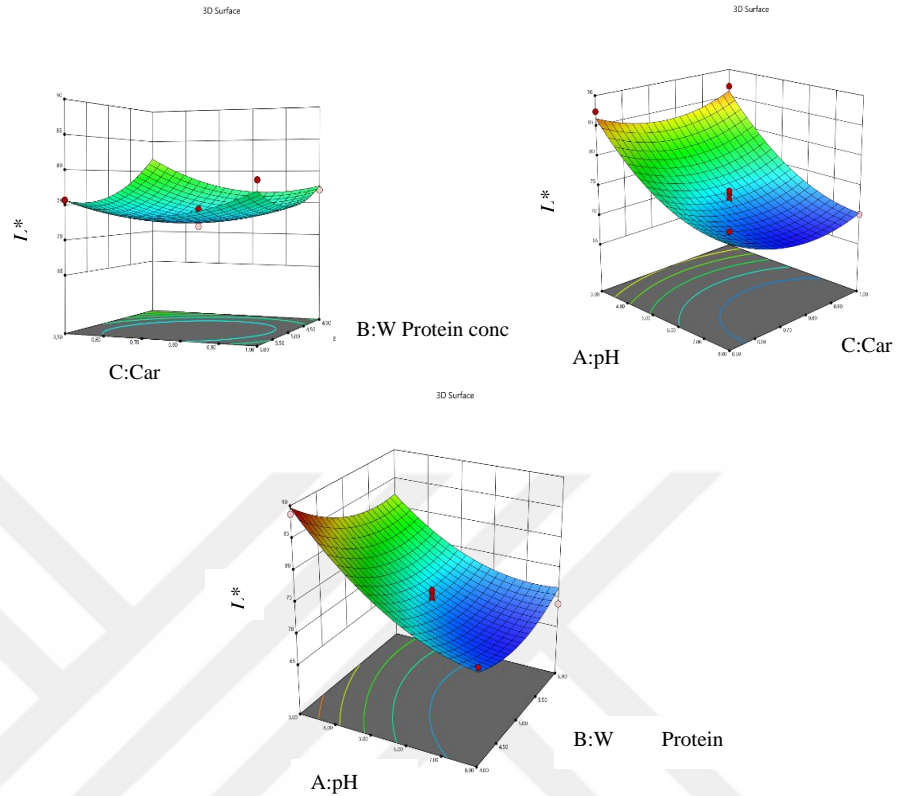
Tablo 3.6. L^* değeri için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar

Std. hata	1.63	R^2	0.951
Ortalama	76.52	Düzeltilmiş R^2	0.919
C.V. %	2.13	Tahmini R^2	0.813
PRESS	204.45	Adeq Precision	18.466

L^* değeri için yazılım programı tarafından üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir. Bu grafikler Şekil 3.3 ve 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.3. pH, süt tozu protein konsantresi (Skimmilk) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin L^* değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği



Şekil 3.4. pH, protein konsantresi (Whey) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin L^* değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği

Grafiklerde görüldüğü üzere L^* değeri Karragenan miktarından etkilenmemiştir fakat pH değeri arttıkça L^* değerinin arttığı gözlemlenmiştir. Ghasemi ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada da pH 3'te hazırlanan numuneler en yüksek L^* 'ye sahip olduğunu belirtmişlerdir [47].

3.4. Stabilité

Yapılan ANOVA analiz sonuçlarına göre model <0.0001 p değeri ile etkin bulunmuştur. Aynı analiz sonucunda R^2 değeri 0.901 olarak ölçülmüştür (Tablo 3.8) ve Tablo 3.7 incelendiğinde model uyumsuzluğunun önemsiz olduğu görülmüştür ve pH, protein konsantrasyonu, karagenan, ve protein tipi stabilite üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur.

Tablo 3.7. Stabilite için RSM Box-Behnken ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama karesi	F değeri	p-değeri Prob > F
<i>Model</i>	616.44	13	47.42	14.03	< 0.0001*
A-pH	264.06	1	264.06	78.14	< 0.0001
B-protein kons.	90.25	1	90.25	26.71	< 0.0001
C-Karragenan	60.06	1	60.06	17.77	0.0003
D-protein tipi	40.26	1	40.26	11.92	0.0020
AB	21.13	1	21.13	6.25	0.0182
AD	18.06	1	18.06	5.35	0.0275
BC	10.13	1	10.13	3.00	0.0906
BD	20.25	1	20.25	5.99	0.0204
CD	3.06	1	3.06	0.91	0.3404
A²	37.14	1	37.14	10.99	0.0027
B²	41.69	1	41.69	12.34	0.0017
C²	3.03	1	3.03	0.90	0.3428
Kalıntı	67.59	20	3.38		
Model uyumsuzluğu	43.59	12	3.63	1.21	0.4527
Saf hata	24.00	8	3.00		
Cor Total	684.03	33			

Tablo 3.8. Stabilite için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyonlar

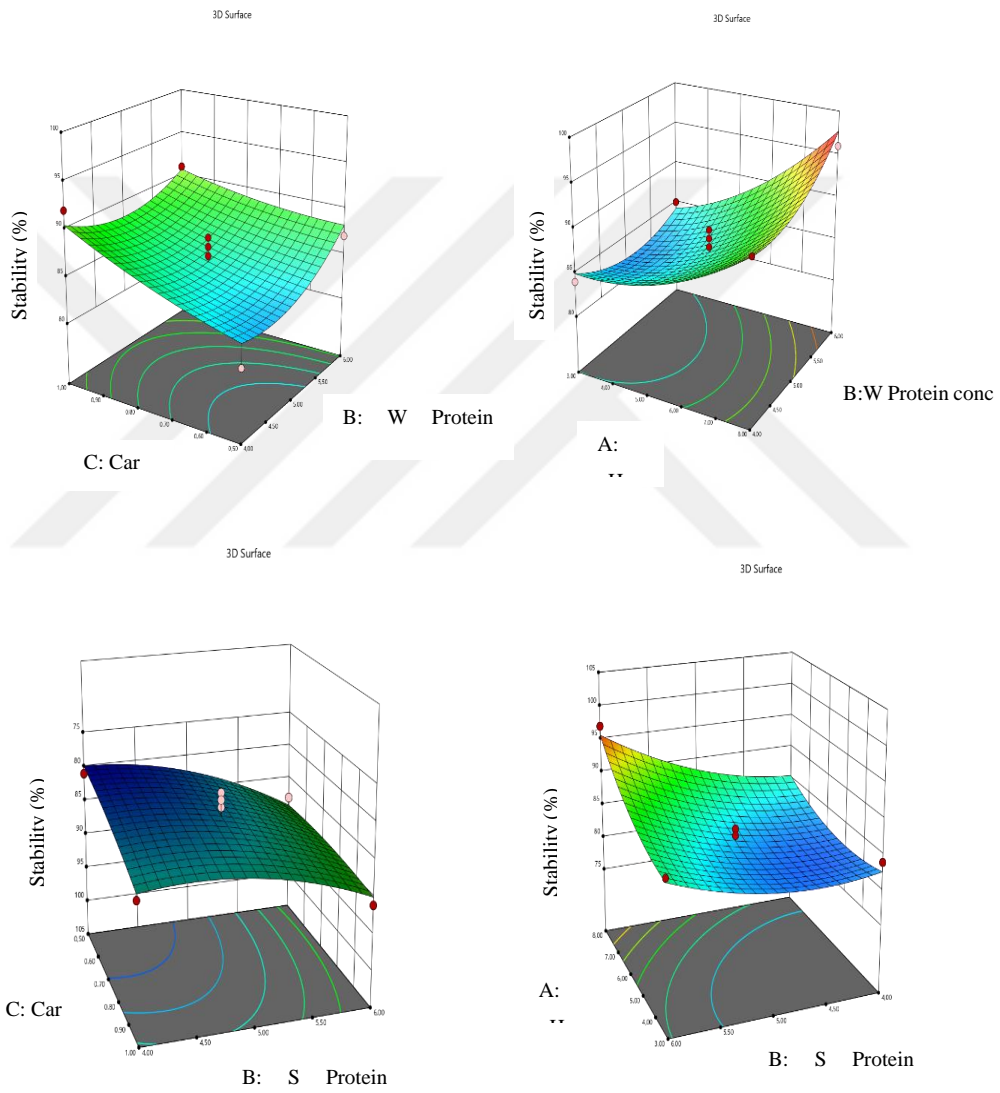
Std. hata	1.374	R ²	0.933
Ortalama	21.441	Düzeltilmiş R ²	0.890
C.V. %	6.409	Tahmini R ²	0.760
PRESS	135.985	Adeq Precision	15.759

Stabilite için yazılım programı tarafından üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri Şekil 3.5'te çizilmiştir.

Şekil 3.5'te görüldüğü üzere stabilite değeri en çok peynir altı suyu protein konsantrisinde en yüksek değere sahip olduğu gözlemlenirken yağsız süt tozundaki stabilite değeri daha düşük çıkmıştır ve artan pH değerinde de stabilite değeri azalmaya başlamıştır. Artan karragenan miktarıylada stabilite değerinin arttığı tespit edilmiştir. Ghasemi ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada da pH 3'te hazırlanan numuneler en yüksek L*'ye sahip olduğunu belirtmişlerdir [47].

Deneme sonuçlarına göre en iyi sonuç veren optimum seviye belirlenmiş olup diğer aşamada bu optimum seviye üzerinden analizler yapılmıştır. Optimum seviye olarak L* ve stabilite değerleri max seçilerek belirlenmiştir ve istenebilirlik değeri 0,74 bulunmuştur.

Bu sonuçlara göre optimum nokta pH 3'te karrageenan %1, peynir altı suyu %4 olarak tespit edilmiştir ve protein polisakkarit oranı 4:1 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.5. pH, protein konsantresi (W veya S) ve karagenandan (Car) etkilenen nanokomplekslerin stabilitesi

3.5. Nanokompleks çözeltilerin fizikokimyasal özellikleri

Farklı pH (3, 6, 9)' larda hazırlanmış emülsiyonlarda renk, viskozite ve stabilite sonuçları Tablo 3.9' da verilmiştir.

Tablo 3.9. Emülsiyonların Analiz sonuçları

Örnekler	Renk			Viskozite cP	Stabilite %
	L^* değeri	a^*	b^*		
pH3	88.366	-0.772	0.574	2.69	86.5
pH6	87.55	-0.708	0.492	8.435	61.5
pH9	87.706	-0.786	1.49	6.3775	69

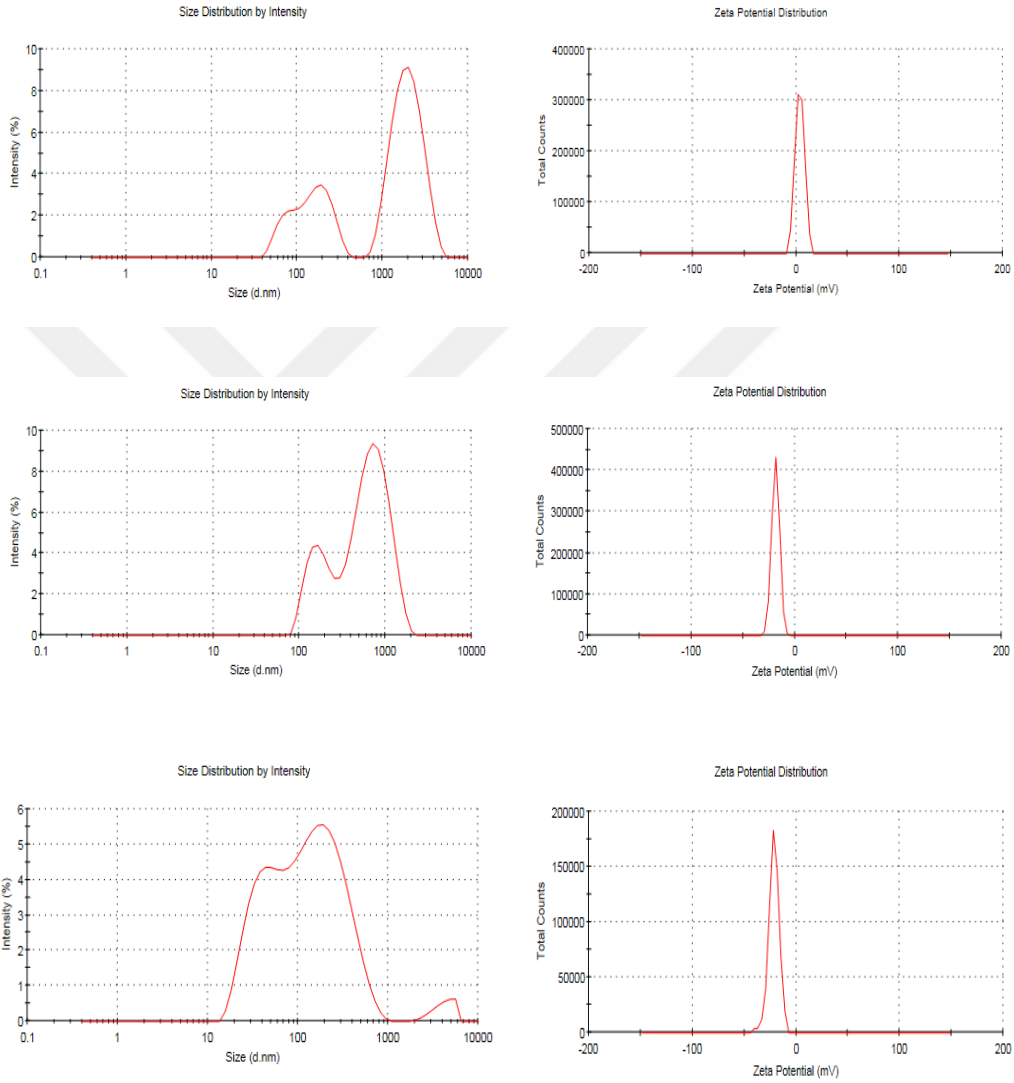
L^* değeri en yüksek pH'3 te 88.366 gözlemlenirken en düşük pH 6' da 87.55 olarak gözlemlenmiştir. Protein ve polisakkarit arasındaki zıt yükten dolayı aralarında elektrostatik çekme oluşur. Düşük pH'da peynir altı suyu proteini pozitif bazlı yüzey yükleriyle birbirini çekerler ve sıfır yüke ulaşarak çökelirler. Bundan dolayı sitral kompleks içine hapsolür ve L^* değeri yüksek çıkar. Ghasemi ve arkadaşları (2017), yaptıkları çalışmada portakal yağı kompleksinin renk değerini benzer şekilde pH 3'te en yüksek bulmuştur [47].

Viskozite değeri en yüksek pH 6' da 8.435 cP gözlemlenirken en düşük viskozite pH 3' te 2.69 cP olarak gözlemlenmiştir. Viskozite, biyopolimerler arasında en iyi çekimi gösteren işlemde daha yüksektir. Düşük pH değerinde peynir altı suyu proteini çökelmiş ve ayrılmıştır bu durum da viskozitede düşüşe neden olmuştur. Ghasemi ve arkadaşları (2017), en düşük viskoziteyi benzer şekilde pH 3'te gözlemlenmiştir. Bu durumda en düşük viskozite değerinin asidik pH değerleriyle ilişkili olduğunu desteklemiştir [47].

Stabilite değeri en yüksek pH 3 'te %86.5 gözlemlenmişken en düşük pH 6 'da %61.5 olarak gözlemlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre viskozite ve stabilite arasında ters orantı olduğu gözlemlenmiştir. Tian ve arkadaşları (2017), yaptıkları bir çalışmada Tween 20 emülgatörünün asidik ortamda sitralin stabilitesinin arttığını belirtmişlerdir. Bu durumda bizim çalışmamızı destekleyecek niteliktedir [1]. Ghasemi ve arkadaşları (2018) yaptıkları çalışmada yüksek stabiliteye sahip daha küçük limonen yüklü nanokomplekslerin, yüksek pH değerlerinde üretildiğini belirtmişlerdir [57].

3.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü

Üç farklı pH değerinde sitral yüklü optimum peynir altı suyu proteini-karagenan-maltodekstrin komplekslerinin parçacık boyutu ve zeta potansiyelleri aşağıdaki şekillerde özetlenmiştir.



Şekil 3.6. Sırasıyla pH 3,6,9’da hazırlanan nanokomplekslerinin partikül boyutu(sol taraf) ve zeta potansiyel(sağ taraf) sonuçları

Zeta potansiyeli, arayüzlerdeki elektrokimyasal dengeyi karakterize eden bir parametredir. Koloidal bir sistemde, yüklü parçacıklar üzerindeki hareketsiz ve dinamik iyonik katmanlar arasındaki potansiyel farklara zeta potansiyeli denir ve parçacıkların kararlılığında önemli rol oynar. Numune çözeltisindeki parçacıkların büyüklüğünü ve düzgünlüğünü tamamen yansıtabilmektedir [58].

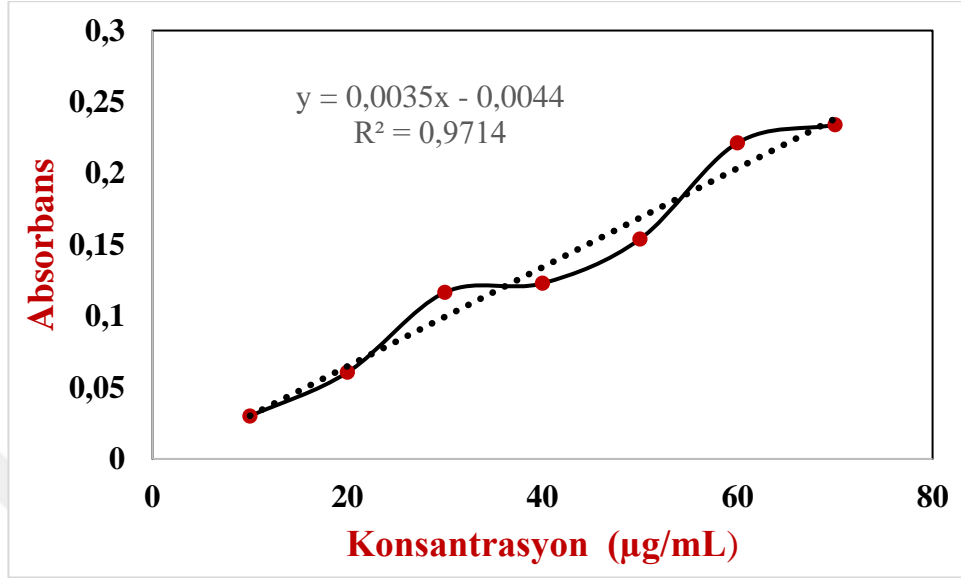
3, 6 ve 9 pH değerlerinde oluşan kompleksler için Zeta potansiyeli sonuçları sırasıyla +3.77, -18.4 ve -21.4 mV' dir. Combrinck ve arkadaşları (2014), yaptıkları çalışmada peynir altı suyu ile stabilize edilmiş emülsiyonlara pozitif yüklü kitosan ilave ettikten sonra zeta potansiyelinde artış gözlemlenmiştir ve benzer şekilde pH 4, 5 ve 6 değerlerinde birincil emülsiyonlara negatif yüklü karragenan ilave edildikten sonra zeta potansiyelinde azalma olduğunu belirtmişlerdir [39]. Ghasemi ve arkadaşları (2018), artan pH değerlerinde zeta potansiyelinin negatif olarak arttığını belirtmişlerdir. Elektroforetik hareketlilik ölçümlerinden belirlenen kompleks biyopolimerlerin yüzey yükü (zeta potansiyeli), pH = 9'da (-21.4 mV) oldukça negatiften pH = 3'te (+3.77 mV) biraz pozitif değışmiştir.(mV: milivolt) [47]. Zeta potansiyeli, izoelektrik nokta (pI)'dan düşük pH değerlerinde pozitif değer iken yüksek pH değerlerinde negatif değer almaktadır. Karmaşık parçacıklar arasındaki elektrostatik itme, zeta potansiyelinin değerine bağlıdır. Zeta potansiyeli ne kadar yüksekse (negatif veya pozitif), iki biyopolimer arasındaki itme gücü o kadar yüksek olur ve daha kararlı kompleksler oluştururken düşük zeta potansiyeline sahip kompleksler pıhtılaşma ve topaklanma eğiliminde olur.

3, 6 ve 9 pH değerlerinde oluşan kompleksler için partikül boyutları sonuçları sırasıyla 340.2 nm, 345.8 nm, 83,12 nm olarak ölçülmüştür. Değişen pH değerleriyle partikül boyutu da değışmiştir benzer şekilde Arroya ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, antosiyaninler WPC(peynir altı suyu proteini)-pektin elektrostatik komplekslerinin oluşumuyla kapsüllenirken pH değerlerinin değıştirilmesiyle parçacık boyutunun değıştiğini göstermiştir. pH 4'te parçacıkların ortalama boyutu yaklaşık olarak 200 nm'ye ulaşıldığını bununla birlikte, artan ve azalan pH ile ortalama parçacık boyutu arttığını gözlemlenmiştir [73].

3.7. Sitralin kapsüllenme verimliliği

Mikroenkapsülasyon çalışmalarında incelen en önemli faktörlerden biri enkapsülasyon etkinliğidir (EE). Nanokompleks tozların yüzeyindeki sitral miktarı, 238 nm'de UV-vis spektrofotometri kullanılarak kapsüllenmemiş fraksiyon olarak belirlendi. %EE daha sonrasında denklem kullanılarak hesaplandı. Buradaki amaç yüzeydeki kapsüllenmemiş sitral miktarı bulunarak toplamdaki sitralin ne kadarının kapsüle edildiğini belirlenmesidir.

Farklı konsantrasyonlardaki sitralin absorbands değerleri girilerek oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 3.7’ deki gibi bulunmuştur.



Şekil 3.7. Sitralin kalibrasyon eğrisi grafiği

Farklı pH (3,6,9) ‘lardaki ölçülen absorbands değerleri sitralin kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklemde ($y=0.0035x-0.0044$) yerine konularak sitralin konsantrasyonları hesaplandı.

Sonrasında elde edilen konsantrasyon değerleri denklemde yerine konularak elde edildi.

$$\%EE = \frac{\text{Toplam sitral ağırlığı} - \text{serbest sitral ağırlığı}}{\text{toplam sitral ağırlığı}} \times 100$$

Elde edilen sonuçlara göre sitralin kapsüllenme verimliliği pH 3’ te %64.808, pH 6’da %52,210, pH 9’da da %35,945 olarak hesaplanmıştır. İstatistiki olarak gruplar arasındaki fark anlamlı olup üç değerinde birbirinden farklıdır ve en yüksek verimliliğe pH 3 sahipken en düşük verimliliğe pH 9 sahiptir.

Ghasemi ve arkadaşları (2017), yaptığı çalışmada portakal kabuğu yağını farklı pH (3,6,9) değerlerinde pektin peynir altı suyu kompleksleriyle kapsüllemiş olup tozların kapsülleme verimliliğini sırasıyla %88, %84,%70 bulmuşlardır. Artan pH değeriyle verimliliğin azaldığını gözlemlemişlerdir [47]. Bizim yaptığımız çalışmada sonucumuzu destekler nitelikte olup artan pH ile verimliliğimiz azalmıştır.

Afzal ve arkadaşları (2018) yaptıkları çalışmada, farklı pH'larda ve farklı ağırlık yüzdellerinde; aljinat ve kitosan ile hazırlanan hidrojellerin farklı sitral kapsülleme ve yükleme kapasiteleri sergilediğini belirtmişlerdir [11].

Wang ve arkadaşları (2019), sitralin su içi emülsiyonlarını farklı yağ konsantrasyonlarıyla tek ve çok katmanlı mikrokapsülasyonunu yaptıklarında kapsülleme verimliliğini çift katmanlıda %96,6 tek katmanlıda %78,6 olarak bulmuşlardır [59]. Bizim yaptığımız çalışmada da verimliliğin yüksek olması için çok katmanlı mikrokapsüller hazırlanmıştır.

Tay ve arkadaşları (2022) yaptığı çalışmada SLN-melt dispersiyon tekniğiyle lipit taşıyıcı sistemlerde karnauba vaks ve balmumu kullanarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerini incelemişlerdir ve elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %30.38-52.71 arasında olduğu tespit etmişlerdir. Kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin %47.37-52.71 arasında olduğu tespit etmişlerdir. Kaplama materyali olarak balmumu kullanılarak elde edilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliklerinin ise %30.38-31.99 arasında olduğu tespit etmişlerdir. En yüksek enkapsülasyon etkinliği değerlerinin kaplama materyali olarak karnauba vaks kullanılarak elde edilen mikropartiküllere ait olduğu saptamışlardır ve bu durumun kaplama materyali ile etken madde arasındaki ilişki ile alakalı olabileceği düşünmüşlerdir[36].

3.8. Nanokompleks olarak hazırlanan tozların fizikokimyasal özellikleri

Tablo 3.10'da renk, çözünürlük, su aktivitesi, yoğunluk sonuçları ortalamaları verilmiştir. Tüm sonuçlar istatistiksel olarak $p>0.05$ ise anlamsız, $p<0.05$ ise anlamlı olarak yorumlanmıştır.

L^* değeri en büyük pH 6' da olarak gözlemlenmiştir ve istatistiksel olarak pH 3 ve pH 9 arasındaki fark anlamlıdır ve birbirine benzer özellik göstermektedir. a^* değeri için pH 9 ve pH 6 birbirine benzer özellik gösterirken pH 3 en yüksek değeri göstermiştir. b^* değeri pH 3 ve pH 9 birbirine benzer özellik gösterirken pH 6 en küçük değeri göstermiştir.

Tablo 3.10. Nanokompleks tozların fizikokimyasal özellikleri

Örnekler	Renk			Çözünürlük %	Su aktivitesi a_w	Yoğunluk		
	L^* değeri	a^*	b^*			Kütle yoğunluğu	Mutlak yoğunluk	Gözeneklilik
pH 3	90.864	-0.474	4.276	95.8	0.152666667	0.13012452	1.342	0.90303687
pH 6	91.468	-0.808	3.362	98.88	0.125	0.123150858	1.3788	0.910682581
pH 9	91.058	-0.732	4.178	95.92	0.127666667	0.129421491	1.3863	0.906642508

Tay (2022)' de yapmış olduğu çalışmada elde edilen tüm mikropartiküllerin L^* değerlerini $90.85 \pm 0.102 - 91.90 \pm 0.000$ arasında, a^* değerlerini -0.46 ± 0.005 ile -0.49 ± 0.009 158 arasında b^* değerlerini ise $0.42 \pm 0.060 - 0.86 \pm 0.005$ arasında olduğu tespit etmiştir. Dolayısıyla elde edilen tüm mikropartiküllerin renginin beyaz, yeşil ve sarı renge meyilli olduğunu söylemiştir [36]. Bizim çalışmamızda benzer şekilde nanopartikül tozların rengi beyaz, yeşil ve sarı renge meyillidir.

Çözünürlük, sulu fazda ürün davranışını değerlendirmede önemli bir kriterdir. Çözünürlük özelliği, temelde toz ürünün kimyasal kompozisyonu ve fiziksel durumu ile alakalıdır. Toz ürünlerin çözünürlük özelliğinin iyi olması kullanılabilirliğini ve fonksiyonelliğini arttırmaktadır [17]. Çözünürlük değerleri birbirine benzer özellik göstermemiş olup çözünürlük değeri en yüksek pH 6'da %98.88 iken en düşük pH 3'te %95.8 olarak bulunmuştur. Tay ve arkadaşları (2022) yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda maltodekstrin ve nişasta kullanarak yeşil çay mikrokapsüllerinin suda çözünürlük indeksi, %5.70-95.57 arasında değişiklik gösterdiğini belirtmiştir. çözünürlük değeri en yüksek olan örneklerin kaplama materyali olarak maltodekstrin (%94.20-95.57) kullanılarak elde edilen yeşil çay mikrokapsülleri olduğu, en düşük olan örneklerin ise kaplama materyali olarak nişasta kullanılarak elde edilen örnekler olduğunu belirtmiştir. Bu durumda maltodekstrinin nişastaya göre yüksek çözünürlüğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Araştırmalarından elde ettikleri sonuçlara göre enkapsülasyonda kullanılan kaplama materyali cinsinin suda çözünürlüğü etkilediğini tespit etmiştir [36].

Su aktivitesi değeri pH 3, pH 6, pH 9 için istatistiki olarak gruplar arasındaki fark anlamsızdır ($p > 0.05$). Turchiuli ve arkadaşları (2005) yaptıkları çalışmada püskürterek

kurutulmuş tozların su aktivitesi değerini 0.1-0.2 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Su aktivitesinin 0.2 değerinin altında bulunması durumunda partiküllerin yapışkan olmadığını, depolama sırasında mikrobiyolojik açıdan daha stabil olduğunu belirtmişlerdir [74]. Bizim değerlerimizde benzer şekilde 0.125-0.157 arasında bulunmuştur ve partiküller yapışkan değildir. Sosa ve arkadaşları (2011) de yaptıkları çalışmada sitrali sükroz ve trehaloz matrisinde püskürterek kurutarak oluşturduğu nanopartikül tozların su aktivitesi a_w değerlerini 0,098 ile 0,183 arasında değiştiğini belirtmiştir [2].

Kütle yoğunluğu aynı gramda tartılan pH (3,6,9)' daki nanaokapsül tozların hacimsel olarak kapladığı oran bulunarak hesaplanmıştır, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde pH 3, pH 6, pH 9 için gruplar arasındaki fark anlamsızdır ($p>0.05$). Düşük pH değerinde kütle yoğunluğu daha fazladır. Daha yüksek su aktivitesine sahip pH 3'te $0.13012452 \text{ kg/m}^3$, kuru katılardan çok daha yoğun olan suyun varlığından dolayı daha yüksek ağırlığa sahip olma eğilimindedir [47]. Şahin (2009), yığın yoğunluğunun, kurutma işlemi sırasında uygulanan emülsiyon besleme hızı, hava hızı, emülsiyon konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilendiğini belirtmiştir [75]. Literatüre göre toz partiküller için yüksek yığın yoğunluğu, oksidatif hasara karşı daha dayanıklı ve daha stabil partikül eldesini ve daha az paketleme hacmine ihtiyaç duyulması açısından arzu edilen bir özelliktir [36].

Mutlak yoğunluk sonuçları birbirinden farklıdır en yüksek pH 9'da 1.3863 kg/m^3 iken en küçük pH 3'te 1.342 kg/m^3 'tür. Ghasemi ve arkadaşları (2017), yaptıkları çalışmada kütle ve mutlak yoğunluğu daha düşük pH değerlerinde arttığını belirtmişlerdir[47].

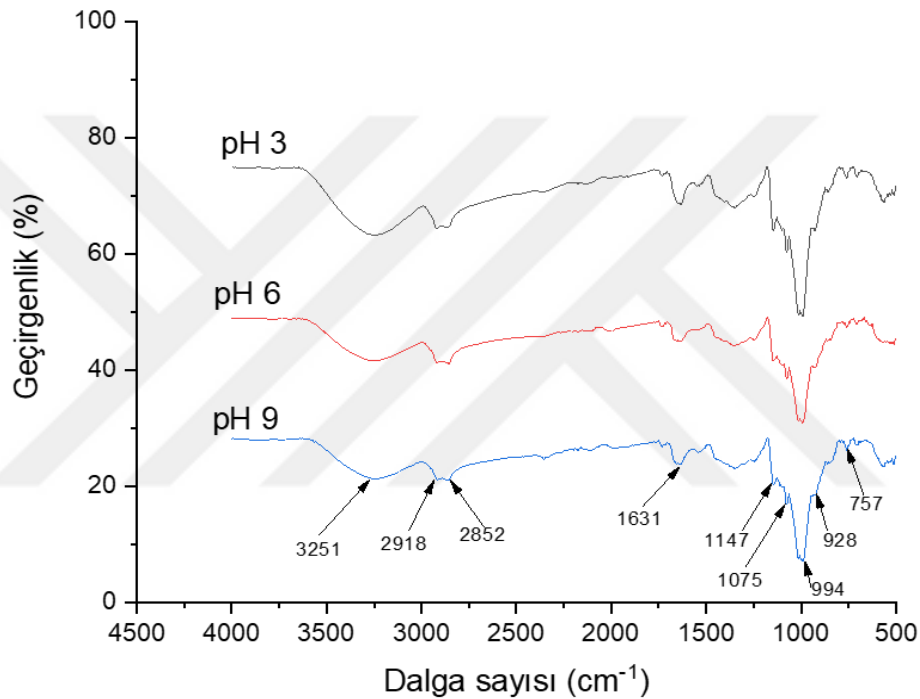
Gözeneklilik sonuçlarında gruplar arasındaki fark anlamlıdır ve birbirlerinden farklıdır ($p<0.05$). pH 6'da 0.910682581 en büyük değeri gösterirken pH 3'te 0.90303687 en küçük değeri göstermiştir. Nanokompleks tozların gözenekliliği kütleye ve mutlak yoğunluğa bağlıdır, kütle yoğunluğunu artırarak ve mutlak yoğunluğu azaltarak gözeneklilik azalır. pH 6' da daha düşük yoğunluklu içi boş parçacıklar parçacıklar elde edilir ve daha çok gözeneklilikle sonuçlanmıştır. Ghasemi ve arkadaşları (2017), artan pH değerleriyle gözenekliliğin arttığını belirtmişlerdir [47].

Sonuç olarak, pH 3'te su aktivitesi değerinin yüksek olması mutlak yoğunluğu etkilemiştir ve yüksek yoğunluklu, az gözenekli nanopartiküller elde edilmiştir. L^*

değerinden oluşan parlaklığı pH 3'te diğerlerine oranla daha az iken üründe oluşan sarı rengi sağlayan b^* değeri daha yüksektir.

3.8.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

FTIR matematiksel Fourier dönüşümü yöntemi ile ışığın infrared yoğunluğuna karşı dalga sayısını ölçen kimyasal analitik bir yöntemdir. Farklı pH (3, 6, 9) değerlerindeki kapsüllere ait FTIR spektrumları Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. pH (3,6,9) nanokomplekslerin FTIR analiz sonucu

Tablo 3.11'de dalga sayısı aralığı ve bu aralıkta belirlenen baskın bileşenler verilmiştir.

Proteinin yapısı peptid bağına özgüdür. Peptid bağı C=O, C-N ve N-H bağlarını içermektedir. Proteinlerin FTIR spektrumları amid I, amid II ve amid III bantları olmak üzere 3 absorpsiyon bandından oluşmaktadır. Amid I bantı, 1600-1700cm⁻¹ dalga sayısında olup C=O gerilme titreşimi ve N-H bağlarından kaynaklı bükülme ile ilgilidir. Amid I bandı, ağırlıklı olarak amid C=O grubunun, C=O gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. Amid II bantı, 1450- 1500 cm⁻¹ dalga sayısı arasındaki bantlar olup, N-H eğilme titreşimlerinden ve C-N bağlarından kaynaklı gerilme titreşimleri ile ilgili

olmaktadır. Amid III bantı, 1200-1450 cm^{-1} dalga sayısı arasındaki absorpsiyon bantları ise proteinlerin C-N gerilme ve N-H bükülme değişmelerinden kaynaklanmaktadır [70].

Tablo 3.11. Dalga sayısına karşılık gelen bileşenler [76]

Dalga sayısı/aralık cm^{-1}	Baskın bileşenler
3000-2800	Yağ asitleri
1700-1500	Amid bölgesi; amid I amid II bantları (proteinler ve peptitler)
1500-1200	Karma bölge; proteinlerin karboksilik grupları, serbest aminoasitler, polisakaritler, yağ asitleri ve fosfat taşıyan bileşenler
1250-1200	RNA/DNA, fosfolipitler
1200-900	Polisakarit bölge; hücre duvarında bulunan karbohidratların parmak izi benzeri absorpsiyon bantlar
<900	Doğru parmak izi bölgesi; bazı belirli spektral desenleri ifade eden, henüz tam tanımlanmamış hücre bileşenleri veya fonksiyonel gruplar

Şekil 3.8' e göre; 3400-3070 cm^{-1} dalga sayısı arasındaki absorpsiyon O-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Sitril kaynaklı 2918 cm^{-1} - 2852 cm^{-1} civarındaki pikler, CH_3 ve CH_2 esneme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. pH arttıkça bu kırılma 2869.6 cm^{-1} den 2852.7 cm^{-1} e kaymıştır. 1631.8 cm^{-1} 1636.2 cm^{-1} amid I bantıdır ve amid II (1540 cm^{-1}) bantı kaybolmuştur. Buda kısmi denatürasyonun olduğunu kanıtlamaktadır.

Gbassi ve arkadaşları (2012) dalga boyu 3500-3100 cm^{-1} arasındaki bant O-H arasındaki germe titreşimine atfedildiğini belirtmişlerdir [77].

Tian ve arkadaşları (2018) sitralin FTIR spektrum piklerini incelemiş 2918 cm^{-1} - 2852 cm^{-1} civarındaki piklerin sırasıyla CH_3 ve CH_2 esneme titreşimlerine atfetmişlerdir. 1674 cm^{-1} tepe noktası C=O germe titreşimine, 1445 cm^{-1} tepe noktası C=C titreşimine, 1349 cm^{-1} tepe noktası CH_3 esneme titreşimine bağlamışlardır [78].

Gbassi ve arkadaşları (2012), peynir altı suyu protein izolatlarının karakteristik bantlarını görel konumlarına göre açıklamışlardır. 3268,6 cm^{-1} 'deki bant, $-\text{NH}_2$ 'ye bağlı $-\text{OH}$ 'nin gerilme titreşimlerine karşılık geldiğini; 2961,5 cm^{-1} ve 2926,6 cm^{-1} 'deki bantlar CH_2 gruplarına karşılık geldiğini; 2200 ve 2000 cm^{-1} arasındaki bantlar, elmas kristal

emiliminden kaynaklandığını belirtmişlerdir.. 1638.0 cm^{-1} 'deki bant, proteinlerin birincil amid grubu (-CO-NH₂) için karakteristik bir banttır. 1517.7 cm^{-1} 'deki bant, proteinlerin ikincil amid grubudur (-CO-NH). 1410.0 cm^{-1} 'deki bant ve 1000 cm^{-1} civarındaki diğer bantlar -C-O, C-C ve -C-OH gruplarına karşılık gelir. 1638.0 cm^{-1} ve 1517.7 cm^{-1} 'deki bantlar peynir altı suyu proteinlerini iyi karakterize eden bantlar olduğunu belirtmişlerdir [77].

Kher ve arkadaşları (2007), 1660 cm^{-1} - 1650 cm^{-1} civarında bir bant, peynir altı suyu proteinlerinin birincil amid bölgesini ve 1630 cm^{-1} 'de ikincil amid bölgesini karakterize edildiğini belirtmişlerdir [79].

Polisakkaritlerin karakteristik bant aralığından 1000–1220 cm^{-1} bölgesi güçlü absorpsiyon bantlarına sahiptir. 1010 ile 1080 cm^{-1} arası glikozidik bağlara atfedilir ve bu da karagenanlarda bulunur. Spektrum, 924-928 cm^{-1} (3,6-anhidrogalaktozun grubu C-O'su) bölgesinde güçlü absorpsiyon bantları gösterir. Ayrıca, 3,6-anhi drogalaktoz biriminin sülfat grubu ile ilişkili olan 805 cm^{-1} bölgesinde azalmış absorpsiyon gösterir. Spektral bölgede geniş bir bant göstermez [80].

Ghasemi ve arkadaşları (2017), pektin-peynir altı suyu proteini nano-kapsüllerinin püskürtülerek kurutulmuş toz parçacıkları üzerinde yaptıkları FTIR analizinde 991 cm^{-1} de keskin bir bant ortaya çıktığı için peynir altı suyu proteinleri ile pektin arasında kimyasal bir reaksiyon ve bağ oluşumu olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, tüm yüklü kompleksler, 1628'den 1629 cm^{-1} 'e kayan pektinin karboksil grupları ile WPC 'nin amino grupları arasında 1629 cm^{-1} 'de oluşan keskin amid bir bağı tepe noktası olduğunu göstermişlerdir [47].

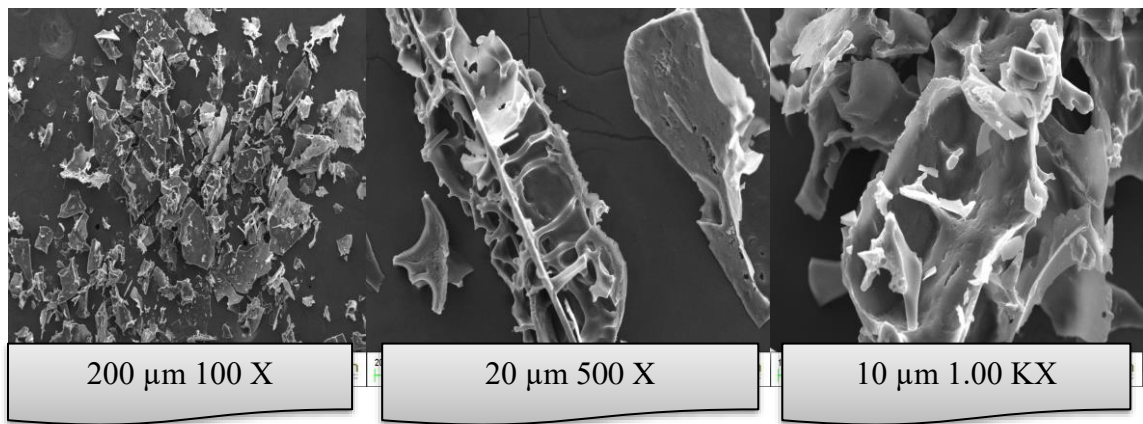
Afzal ve arkadaşları (2018) kitosanın pH'a duyarlı hidrojellerinin ve bunun sodyum aljinatlı bileşik hidrojellerinin dinamiği, reoloji ve spektroskopi ile incelemişlerdir. Asidik, nötr ve bazik pH'larda hazırlanan sodyum aljinat çözeltileri, sırasıyla 3355 cm^{-1} , 3340 cm^{-1} ve 3306 cm^{-1} 'de OH gerilme zirvelerini göstermiştir ve düşük pH'ta bağı güçlendiğini ve kolay ayrıştığını belirtmişlerdir. Ağırlıkça %2:1 aljinat ve kitosan içeren kompozit hidrojellerin spektrumları, sırasıyla pH 4, 7 ve 10'a karşılık gelen 3297, 3289, 3280 cm^{-1} 'deki pikleri göstermiştir ve böylece saf aljinat çözeltisine benzer davranış sergilediğini göstermişlerdir. Ayrıca, karboksilat grubunun pikleri sırasıyla daha düşük, nötr ve daha yüksek pH'ta 1625, 1634 ve 1628 cm^{-1} 'de meydana gelmiştir; bu,

muhtemelen mevcut aljinatın daha yüksek yüzdesinden kaynaklanabilecek daha yüksek ve daha düşük pH değerlerinde bağ kuvvetinin zayıfladığını belirtmişlerdir[11].

3.8.2. Nanokomplekslerin morfolojik karakterizasyonu (SEM,AFM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), güçlü bir elektron mikroskobu ve popüler bir yüzey görüntüleme tekniğidir. Elektron yüksek enerjili ışın taraması kullanarak numunenin yüzeyini görüntülemektedir. SEM, geleneksel mikroskopların kullandığı ışık yerine elektronları kullanarak görüntüyü büyötmektedir. Bazen, numunenin nanoparçacıkları arasında, ağırlıklı olarak nanoparçacıklar topaklaşmaya eğilimli olduğundan net bir ayırım olmamaktadır. Görüntünün SEM tarafından çözünürlüğü, numunenin elektron ışını ile etkileşimine bağlıdır [82].

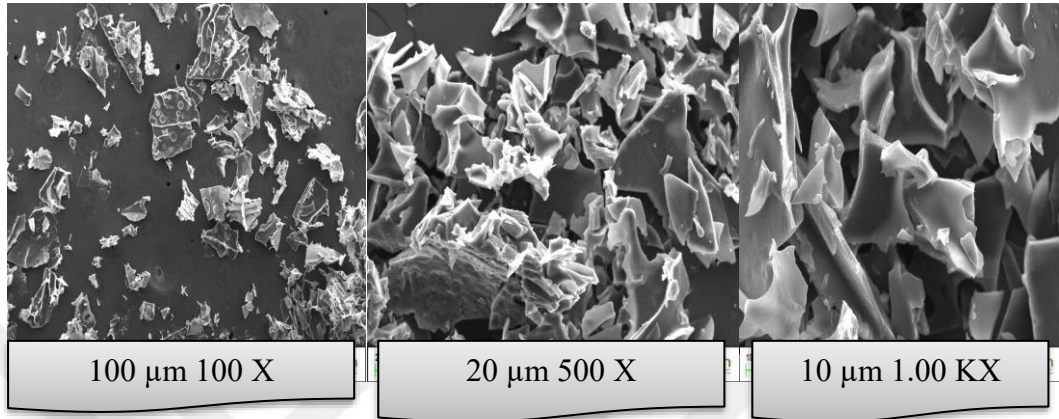
Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi sonucuyla elde edilen görüntüler, üretilen nanopartiküllerin boyut ve yapısal özellikleri hakkında bilgi verir. Aşağıdaki Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11’de de görüldüğü üzere; farklı ölçeklerde büyötmeler ile görüntüleri alınmış olup, temsili olarak en uygun olanları sunulmuştur. Sitral yüklü pH 3’teki nanokomplekslerin 100X, 500X ve 1.00KX kat büyötmüş elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 3.9’deki görüntülerde verilmiştir.



Şekil 3.9. pH 3 ‘teki nanokomplekslerin SEM görüntüleri

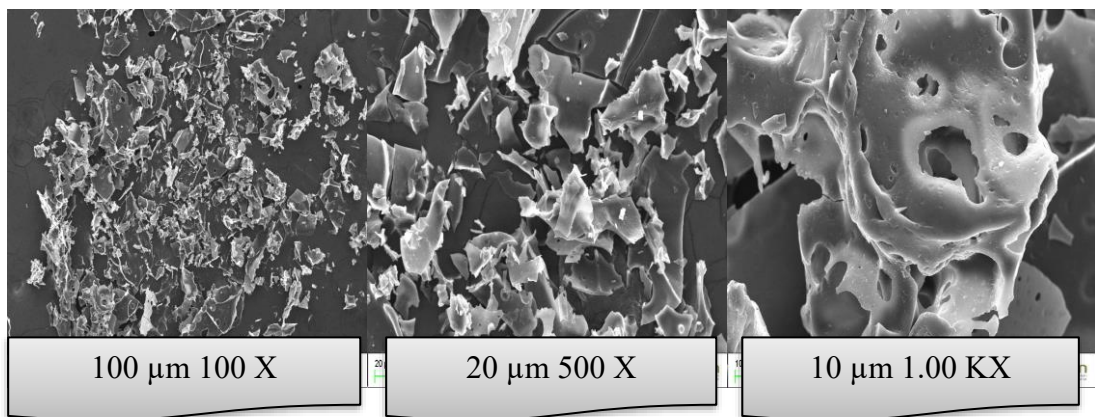
Sitral yüklü nanopartiküllerin pH 6’ daki SEM analizi ile farklı ölçeklerde büyötmelerle görüntüleri alınmış olup, temsili olarak en uygun olanları sunulmuştur. Sitral yüklü pH

6' daki nanokompleklerin 100X, 500X ve 1.00KX kat büyütülmüş elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10. pH 6 'daki nanokompleklerin SEM görüntüleri

Sitral yüklü nanopartiküllerin pH 9' daki SEM analizi ile farklı ölçeklerde büyütmelemlerle görüntüleri alınmış olup, temsili olarak en uygun olanları Şekil 3.11'de sunulmuştur. Sitral yüklü pH 9'daki nanokompleklerin 100X, 500X ve 1.00KX kat büyütülmüş elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri aşağıdaki görüntülerde verilmiştir.



Şekil 3.11. pH 9'daki nanokompleklerin SEM görüntüleri

Tozlarının SEM görüntüleri incelendiğinde, karışım oranlarına ve proses koşullarına göre partiküllerin morfolojisindeki değişim belirgin bir şekilde tespit edilmiştir.

Özellikle pH değeri artıkça yüzeyde delikli yapıların oluşması artmıştır, diğer görüntülere oranla pH 9 da daha delikli yapılar mevcuttur. Yüzeyde bazı çöküntülerin oluşması, liyofilizasyon işlemi sırasında nanokapsüllerin büzülmesinden kaynaklı olabilmektedir. Pürüzsüz dış yüzeyin oluşumu, konjugatlarının daha iyi kaplama özellikleri göstermesinden kaynaklanabilmektedir [81].

Farouk ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada aroma bileşiklerinin emülsiyonlarını farklı taşıyıcılar (arap zankı, sodyum kazeinat, maltodekstrin) hazırlayarak kapsüllemişlerdir. Ana kapsülleyici ajan olarak maltodekstrinin varlığı, SEM'e göre iyi bir küresel şekle ve pürüzsüz bir yüzeye sahip birkaç homojen kapsülün oluşumunu sağladığını belirtmişlerdir [60]. Bizim sonucumuzda da maltodekstrin ilavesinden kaynaklı partiküllerin yüzeyleri daha parlak ve pürüzsüz yüzeye sahip olmuştur.

pH 3,6 ve 9'daki SEM görüntüleri birbirleriyle karşılaştırıldığında artan pH değeriyle yüzeydeki parlaklığın azaldığı gözlemlenmiştir.

Ghellam (2021) yapmış olduğu çalışmada farklı teknikle kurutulmuş tozların morfolojisi Taramalı elektron mikroskopuyla (SEM) incelemiştir. Püskürtmeli kurutmayla, oluklu pürüzsüz yüzeylere sahip küresel mikropartiküller üretildiği belirtmiştir. Emülsiyonların etüvde ve mikrodalgada kurutulması, analiz için öğütülen çok büyük pul (flakes) eldesine yol açmıştır. Her iki yöntem de gözenekli bir yapı sergilemiştir. Etüvde kurutulmuş numunelerde daha fazla pürüzlülük ve büyük gözenekler ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, mikrodalga işlemi pürüzsüz yüzeylerle sonuçlanmıştır. Liyofilize edilmiş tozlar, bazı gözenekler ve küresel gömülü parçacıklar ile uzun kristal morfolojik yapıya yol açmıştır. Dondurarak kurutma işlemi, diğer yöntemlerin aksine, suyun önceden dondurulmuş süblimasyon yoluyla uzaklaştırılmasına dayanır, bu da gevrek bir yapıya neden olmuştur. Dolayısıyla kurutma yöntemleri mikropartiküllerin dağılımını ve yapısını etkilediği gözlemlenmiştir [18].

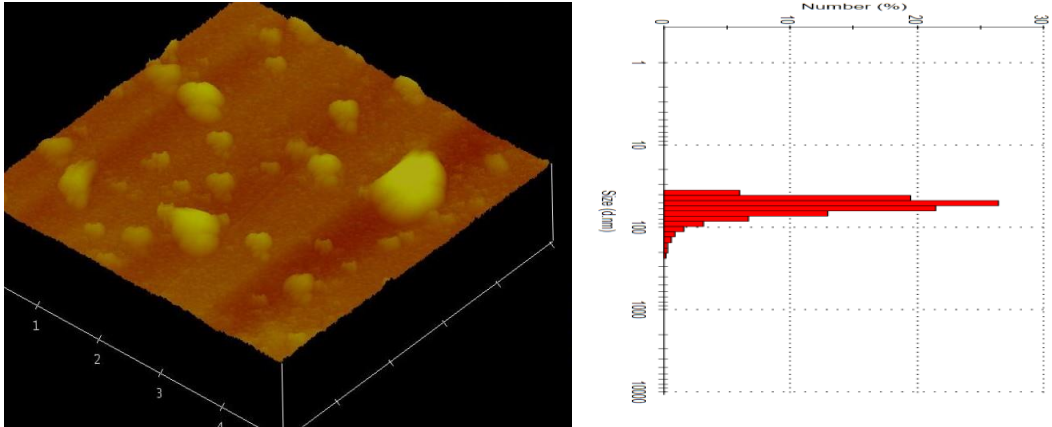
Kaya (2021) yaptığı çalışmada, püskürtmeli kurutma ve liyofilizasyon yöntemleriyle elde edilen mikrokapsüllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerini incelemiştir. Püskürtmeli kurutma tekniği ile üretilen mikrokapsüllerin küresel formda ve yüzeylerinde çatlak ya da kırık bulunmadığını belirtmiştir. Kapsül yüzeyindeki çöküntülerin püskürtmeli kurutmanın ilk aşamasından sıvı damlacıklarının büzülmesi ya da çökmesinden kaynaklı olabileceğini, ayrıca kurutma sırasında suyun hızla

uzaklaştırılması sonucunda kapsül duvarlarında çöküntüler meydana gelebileceğini literatürle benzer şekilde bildirilmiştir. Liyofilizasyon tekniği ile üretilen mikrokapsüllerin düzgün olmayan “kırık cam” formunda, gözenekli ve pürüzlü olduğunu belirtmiştir. Liyofilizasyon işleminin ilk aşamasında, buz donmuş yapıyı desteklerken sonraki aşamalarda buzun süblimleşmesi ile mikrokapsüller üzerinde gözenekler meydana getirmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, farklı kurutma yöntemlerinin mikrokapsüllerin yüzey morfolojisini etkilediği belirtmiştir [16].

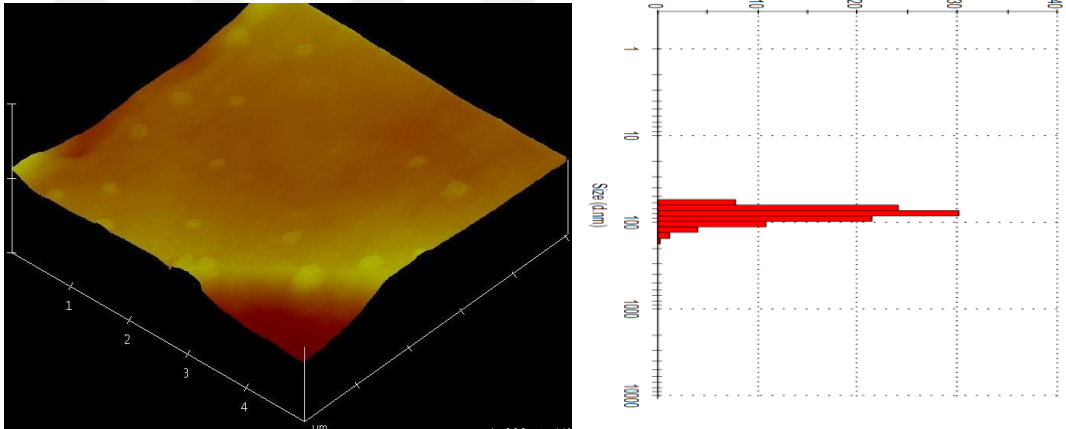
AFM nano ölçekli numunelerin morfolojik ve boyut dağılımını gözlemlemek için etkin bir tekniktir. Aşağıdaki Şekil 3.12, Şekil 3.13, Şekil 3.14’de de gözlemlendiği üzere parçacık morfolojisinin görüntüleri partikül boyutlarıyla karşılaştırılmış ve birbirleriyle uyum sağladığı gözlemlenmiştir. pH 9’da hazırlanan parçacıklar Şekil 3.14’de de görüldüğü gibi küresel, küçük yapılarda homojen bir dağılım sağlarken pH 3, pH 6 da homojen olmayan bir dağılım göstermiştir. En küçük parçacıklar pH 9 da gözlemlenmiştir.

Ghasemi ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada, nanokomplekslerin AFM görüntüleri incelemiştir. WPC-pektin komplekslerinin küresel benzeri görünümünü ve nano boyutlu yapısını doğruladığını belirtmişlerdir. AFM görüntüleri ayrıca WPC-pektin komplekslerinin küresel morfolojisini ve nano boyutlu yapısını doğrulamıştır. Hazırlanan numunelerin AFM görüntüleri arasındaki karşılaştırmada, pH 3’te hazırlanan nano-kompleks parçacıkların, pH 6 ve pH 9’ da formüle edilen parçacıklardan biraz daha büyük ama daha küresel görüldüğünü belirtmişlerdir. En küçük parçacıkları pH = 6’da gözlemlenmişlerdir [47].

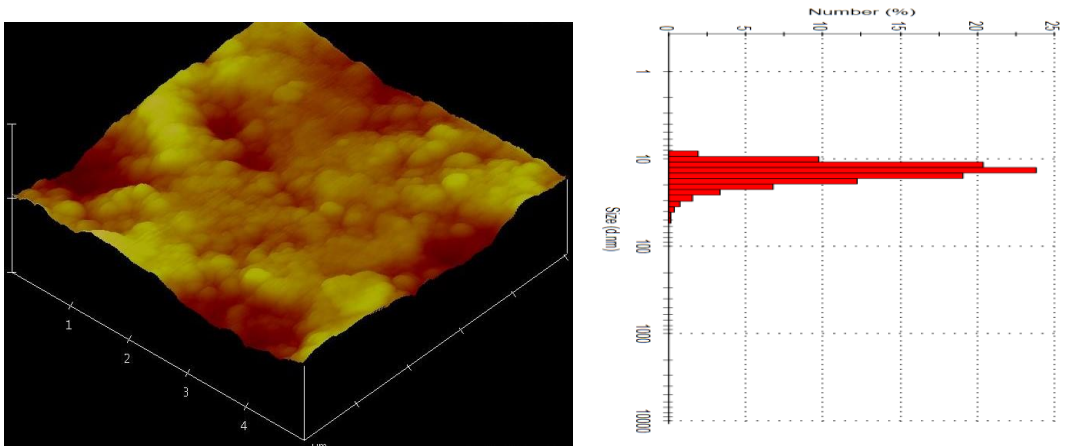
Ghasemi ve arkadaşları (2018) yaptıkları çalışmada, pH 3’teki 4:1 (WPC:pektin) oranında hazırlanan WPC-pektin nano komplekslerinin morfolojik özelliklerini AFM görüntüleri kullanarak incelemiştir ve WPC pektin komplekslerinin küresel benzeri görünümü ve nano boyutlu yapısı doğrulanmıştır. D-limonen içeren WPC-pektin nano komplekslerinin çoğunun 100 nm partikül boyutuna sahip olduğunu belirtmişlerdir [58].



Şekil 3.12. pH 3' teki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri



Şekil 3.13. pH 6' daki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri



Şekil 3.14. pH 9' daki AFM (soldaki) ve partikül size(sağdaki) görüntüleri

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında sitralin nanoenkapsülasyonunda protein tipinin etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, sitrali nanokapsüllemenin optimizasyonu için iki tip protein (peynir altı suyu proteini konsantresi ve yağsız süt tozu) kullanılmıştır. Optimum sonuç Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) Box-Behnken Design kullanılarak belirlenmiştir. Faktör olarak protein tipi, pH, protein ve polisakkarit konsantrasyonları, yanıt olarak ise L^* değeri, stabilite ve viskozite sonuçları seçilmiştir. Optimum nokta: pH 3' te Karragenean %1, Peyniraltı suyu proteini %4, protein polisakkarit oranı 4:1 olarak bulunmuştur. Bu noktada viskozite ve L^* değeri maksimize, stabilite sınır değerler arasına inmiştir. Optimum noktada farklı pH (3, 6, 9) değerlerinde sitralin nanokapsülasyon solüsyonu hazırlanmıştır. Farklı pH'larda ayarlamamızdaki amacımız nanokapsülasyonu yapılmış sitralin farklı pH'lardaki gıdalarda kullanımını inceleyip karakterizasyonunu belirlemektir. Hazırlanan solüsyonlarda partikül boyutu pH (3, 6, 9) için sırasıyla 340.2nm, 345.8nm, 83.12nm bulunurken zeta potansiyeli sonuçları sırasıyla +3.77, -18.4 ve -21.4 mV olarak bulunmuştur. pH değerleri arttıkça zeta değerleri negatifleşmiştir. Sitral yüklü nanokomplekslerin dondurularak kurutulması yapılarak farklı pH'lardaki 3,6,9 nanokompleksler toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen nanokomplekslerin kapsülleme verimliliği (EE) pH 3, 6, 9' da sırasıyla %64.808, %52,210, %35.945 olarak hesaplanmıştır ve verimliliğin pH arttıkça azaldığı gözlemlenmiştir. Fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için renk, çözünürlük, su aktivitesi, kütle yoğunluğu, mutlak yoğunluk ve gözeneklilik analizleri yapılmıştır. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak değerlendirilip yorumlanmıştır. L^* değeri en yüksek pH 6'da gözlemlenmiştir ve pH 3 ve pH 9 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p < 0.05$) birbirine benzer özellik

göstermektedir. a^* değeri için pH 9 ve pH 6'da birbirine benzer özellik gösterirken pH 3 en yüksek değeri göstermiştir. b^* değeri pH 3 ve pH 9'da birbirine benzer özellik gösterirken pH 6 en küçük değeri göstermiştir. b^* değeri en yüksek olan pH 3'ün rengi daha sarı ve parlak tonda olduğu gözlemlenmiştir. Çözünürlük değerleri birbirine benzer özellik göstermemiş olup çözünürlük değeri en yüksek pH 6'da iken en düşük çözünürlüğü pH 3'te göstermiştir. Su aktivitesi değeri pH 3, pH 6, pH 9 için istatistiksel olarak gruplar arasındaki fark anlamsızdır ($p>0.05$). Bulk density sonuçları pH 3, pH 6, pH 9 için gruplar arasındaki fark anlamsızdır ($p>0.05$). Absolute density sonuçları gruplar birbirinden farklıdır en yüksek pH 9'da iken en düşük pH 3 'tür. Gözeneklilik sonuçlarında gruplar arasındaki fark anlamlıdır ve birbirlerinden farklıdır. pH 6'da en yüksek değeri gösterirken pH 3'te en düşük değeri göstermiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde de pH arttıkça yüzeydeki delikli yapı arttığı gözlemlenirken AFM sonuçlarında parçacık morfolojisinin görüntüleri partikül boyutlarıyla karşılaştırıldı ve birbirleriyle uyum sağladığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, protein-polisakkarit kompleksinin sitralin enkapsülasyonunda iyi bir koruma sağladığı desteklenmiş olup farklı gıdalardaki kullanımı incelendiğinde asidik gıdalarda verimliliğinin yüksek olduğu bulunmuştur. Gıda endüstrisinde aroma maddelerinin ışık, ısı ve oksijen gibi ortam şartlarından korunmasında böyle bir enkapsülasyon yöntemi umut vaad etmektedir.

Sonuçlara göre en iyi değeri veren pH 3'teki çözünürlüğün daha yüksek olması için farklı kaplama materyalinde kapsülasyonunun yapılmasının araştırılması gerekmektedir, Partikül boyutunun pH 3'te daha küçük ve homojen partikül boyutunda olması için farklı sonikasyon homejenizasyon işlemi üzerine çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKÇA

1. Tian, H., Li, D., Xu, T., Hu, J., Rong, Y., & Zhao, B. 2017. Citral stabilization and characterization of nanoemulsions stabilized by a mixture of gelatin and Tween 20 in an acidic system. **Journal of the science of food and agriculture**, **97**(9), 2991–2998. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8139>
2. Natalia Sosa; María C. Zamora; Jorge Chirife; Carolina Schebor 2011. Spray-drying encapsulation of citral in sucrose or trehalose matrices: **Physicochemical and sensory characteristics**, **46**(10), 2096–2102. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02721.x
3. Maswal, Masrat; Dar, Aijaz Ahmad 2014. Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality. **Food Hydrocolloids**, **37**(), 182–195. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.10.035
4. Xiang, Jun; Liu, Fuguo; Fan, Rui; Gao, Yanxiang 2015. Physicochemical stability of citral emulsions stabilized by milk proteins (lactoferrin, α -lactalbumin, β -lactoglobulin) and beet pectin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, (), S0927775715302211–. doi:10.1016/j.colsurfa.2015.09.033
5. Yüksel K. (2015). Bazı Uçucu Yağların Ve Etken Maddelerinin Sol-Jel Yöntemiyle Enkapsülasyonu Ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı
6. Yang X, Tian H, Ho CT, Huang Q. 2012. Stability of citral in emulsions coated with cationic biopolymer layers. **J Agric Food Chem.** Jan 11;60(1):402-9. doi: 10.1021/jf203847b. Epub 2011 Dec 27. PMID: 22148257.
7. Hong CR, Park SJ, Choi SJ. 2015. Influence of the hydrophilic head size and hydrophobic tail length of surfactants on the ability of micelles to stabilize citral. **J Sci Food Agric.** 2016 Jul;96(9):3227-32. doi: 10.1002/jsfa.7505. Epub 2015 Dec 18. PMID: 26493760.
8. Bektaş, D. 2014. Limon otu (*lippia citriodora*) ekstraktı ve sitralin *escherichia coli* üzerine antimikrobiyel etkisinin araştırılması. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

9. Djordjevic D, Cercaci L, Alamed J, McClements DJ, Decker EA. 2007. Chemical and physical stability of citral and limonene in sodium dodecyl sulfate-chitosan and gum arabic-stabilized oil-in-water emulsions. **J Agric Food Chem.** 2;55(9):3585-91. doi: 10.1021/jf063472r. Epub 2007 Apr 10. PMID: 17419641.
10. Tian, Huaixiang; Lu, Zhuoyan; Li, Danfeng; Hu, Jing 2017. Preparation and characterization of citral-loaded solid lipid nanoparticles. **Food Chemistry**, S0308814617319106-. doi:10.1016/j.foodchem.2017.11.091
11. Afzal, S., Maswal, M., & Dar, A. A. 2018. Rheological behavior of pH responsive composite hydrogels of chitosan and alginate: Characterization and its use in encapsulation of citral. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, **169**, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.002>
12. Liang CP, Wang M, Simon JE, Ho CT. 2004. Antioxidant activity of plant extracts on the inhibition of citral off-odor formation. **Mol Nutr Food Res.** 48(4):308-17. doi: 10.1002/mnfr.200400027. PMID: 15497182.
13. Meirowitz, R. 2019. Microencapsulation technology for coating and laminating. *Smart Textile Coatings and Laminates*, 2nd Edition, 117-154. doi:10.1016/B978-0-08-102428-7.00005-5
14. Atmane Madene; Muriel Jacquot; Joël Scher; Stephane Desobry 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. , 41(1), 1–21. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x
15. Nedović, Viktor; Kalusevic, Ana; Manojlović, Verica; Lević, Steva; Bugarski, Branko 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Gıda Bilimi**, **1**, 1806–1815. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.265
16. Kaya Z. (2021) Kızılcık Meyvesinin (Cornus Mas L.) Antioksidan Bileşiklerinin Enkapsülasyonu, Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı.
17. Eraso, Monica Ordoñez; Anibal, Herrera 2014. Use of Starches and Milk Proteins in Microencapsulation. **Uluslararası Sebze Bilimi Dergisi**, **20**(4), 289-304. doi:10.1080/19315260.2013.803181

18. Ghellam M. 2021. Güzyemişi (Elaeagnus Umbellata) Meyvesinden Likopen Üretimi Ve Enkapsülasyonu. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı.
19. Dayane De Melo Barros, Erilane De Castro Lima Machado, Danielle Feijo De Moura, Maria Heloisa Moura De Oliveira, Tamiris Alves Rocha, Silvio Assis De Oliveira Ferreira, Roberta De Albuquerque Bento Da Fonte And Ranilson De Souza Bezerra. 2018; Potential Application Of Microencapsulation In The Food Industry. **Int. J. Of Adv. Res.** **6** (Dec). 956-976] (Issn 2320-5407)
20. J. Uhlemann; I. Reiß 2010. Product Design and Process Engineering using the **Example of Flavors.**, **33**(2), 199–212. doi:10.1002/ceat.200900508
21. Jyothi NV, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawan GY. 2010. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **J Microencapsul.** **27**(3):187-97. doi: 10.3109/02652040903131301. PMID:20406093.
22. Corrêa-Filho, Luiz; Moldão-Martins, Margarida; Alves, Vitor 2019. Advances in the Application of Microcapsules as Carriers of Functional Compounds for Food Products. **Applied Sciences**, **9** (3), 571-doi:10.3390/app9030571
23. Gönülşen İrşah (2013) Portakal Yağı İçeren Mikro Ve Moleküler Kapsüllerin Salım Davranışlarının İncelenmesi Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi
24. Başıyigit B. Hayoğlu İ. Atasoy F. 2017 Kekik Esansiyel Yağı ve Mikroenkapsülasyon Uygulamaları, **Batman Yaşam Bilimleri Dergisi. Cilt 7, Sayı 1/2** (2017)
25. Gibbs BF, Kermasha S, Alli I, Mulligan CN. Encapsulation in the Food Industry: A Review. **Int J Food Sci Nutr.** **50**(3):213-24. Doi: 10.1080/096374899101256. PMID: 10627837 burası 24 olacak
26. Augustin MA, Hemar Y. 2009. Nano- And Micro-Structured Assemblies For Encapsulation Of Food Ingredients. **Chem Soc Rev. Apr;****38**(4):902-12. Doi: 10.1039/B801739p. Epub 2008 Dec 4. PMID: 19421570.

27. Şengül Aslan K. 2021 Ruşeym Yağının Tereyağı Yayıkaltı Suyu Bileşenleri İle Enkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
28. Zuidam, N.J., Shimoni, E., 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing, Eds.: Zuidam, N.J., Nedovic, V.A., Springer, London, pp. 7-29.
29. Erdem, F. , Gündoğan, E. N. , Yılmaz, M. S. , Sezgin, İ. , Summakoglu, Y. & Şakıyan Demirkol, Ö. 2021. Kuşburnu (Rosa Canina) Fenolik Bileşiklerinin Mikroenkapsülasyonu . **Gıda**, **46** (4) , 1026-1039 . Doi: 10.15237/Gida.Gd21046
30. Atak, Z. , Koç, M. & Kaymak-ertekin, F. 2017. Gıda Endüstrisinde Aroma Mikroenkapsülasyonu, **Akademik Gıda**, **15** (4) , 416-425. DOI: 10.24323/akademik-gida.370270
31. Öznur Coşkun N. 2020. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi İle Propolis Enkapsülasyonu Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı 2020-YL-053
32. Kocaman E. 2021. Encapsulation And Release Of Amino Acids In Double Emulsions. Ph.D. Thesis. Istanbul Technical University. Graduate School.Department Of Food Engineering. Food Engineering Programme,
33. Gökbulut, İ. & Öztürk, F. S. 2018. Gıda Mikrokapsülasyonunda Aljinat Kullanımı . **Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi**, **8** (1/2) , 16-28 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/buyasambid/issue/37496/382668>
34. Güngör, Ö. , Zungur, A. , Koç, M. & Kaymak-ertekin, F. 2013. Emülsiyonların Özellikleri ve Emülsifikasyon Koşullarının Aroma ve Yağların Mikroenkapsülasyonu Üzerine Etkisi. **Akademik Gıda**, **11** (2) , 116-124 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/55793/763777>
35. Lam, Ricky SH; Nickerson, Michael T. (2014). The properties of whey protein-carrageenan mixtures during the formation of electrostatic coupled biopolymer and emulsion gels. **Uluslararası Gıda Araştırması**, **66**, 140-149.doi:10.1016/j.foodres.2014.08.006

36. Tay S. 2022. Yeşil Çay (*Camellia Sinensis*) Ekstraktlarının Farklı Tekniklerle Enkapsülasyon. Doktora Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
37. Yüksel, N. , Muti İstek, M. & Bulca, S. 2020. Peynir altı Suyu Proteinlerinin Gıda Ambalajlamada Film Ve Kaplama Materyali Olarak Kullanımı. **Journal of the Institute of Science and Technology**, **10** (2), 1042-1052 . DOI: 10.21597/jist.652842
38. McHugh TH. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*. 2000 Jun;44(3):148-51. doi: 10.1002/1521-3803(20000501)44:3<148::AID-FOOD148>3.0.CO;2-P. PMID: 10907233.
39. Aloğlu, H.Ş. & Öner, Z. 2010. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Mikroenkapsülasyon Teknolojisinde Kaplama Malzemesi Olarak Kullanım Olanakları . *Akademik Gıda* , **8** (3) , 38-42 . <https://dergipark.org.tr/en/pub/akademik-gida/issue/55833/764799>
40. Combrinck J, Otto A, du Plessis J. Whey protein/polysaccharide-stabilized emulsions: Effect of polymer type and pH on release and topical delivery of salicylic acid. **AAPS PharmSciTech**. Jun;**15** (3):588-600. doi: 10.1208/s12249-014-0081-3. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24550100; PMCID: PMC4037488.
41. Ty. Sheu; M.Rosenberg. 1998. Microstructure Of Microcapsules Consisting Of Whey **Proteins And Carbohydrates**, **63**(3), 491–494. Doi:10.1111/J.1365-2621.1998.Tb15770.X
42. Robertson, G.L., *Food Packaging: Principle and Practice*. Third Edition, CRC Press, Boca Raton, 703p. (2013).
43. Gökçe Sarıtaş Küçük, Ömer Faruk Çelik, Hasan Türe. 2017. Yenilebilir Aljinat ve Zein Filmlerin Gıda Ambalajlamasında Kullanımı. **Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi**.
44. Vanessa Leiria Campo; Daniel Fábio Kawano; Dílson Braz da Silva Jr.; Ivone Carvalho 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – **A review**. , **77**(2), 167–180. doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.020

45. Gu YS, Decker EA, McClements DJ. 2004. Influence of pH and iota-carrageenan concentration on physicochemical properties and stability of beta-lactoglobulin-stabilized oil-in-water emulsions. **J Agric Food Chem.** **2**;52(11):3626-32. doi: 10.1021/jf0352834. PMID: 15161241.
46. Li K, Pan B, Ma L, Miao S, Ji J. 2020. Effect of Dextrose Equivalent on Maltodextrin/Whey Protein Spray-Dried Powder Microcapsules and Dynamic Release of Loaded Flavor during Storage and Powder Rehydration. **Foods.** **7**;9(12):1878. doi: 10.3390/foods9121878. PMID: 33348706; PMCID: PMC7766601.
47. Ghasemi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Khomeiri, M. 2017. Production of pectin-whey protein nano-complexes as carriers of orange peel oil. **Carbohydrate polymers**, **177**, 369–377. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.009>
48. Devi N, Sarmah M, Khatun B, Maji TK. 2017. Encapsulation of active ingredients in polysaccharide-protein complex coacervates. **Adv Colloid Interface Sci.** **239**:136-145. doi: 10.1016/j.cis.2016.05.009. Epub 2016 Jun 2. PMID: 27296302
49. Akhavan Mahdavi, Sahar; Jafari, Seid Mahdi; Assadpoor, Elham; Dehnad, Danial 2016. Microencapsulation Optimization of Natural Anthocyanins with Maltodextrin, gum Arabic and Gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, S0141813016300083–. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011
50. Hülya Gül. Fatma Hayıt. 2022. Gıda Mühendisliği Alanında Yeni Yaklaşımlar Gıda Teknolojisinde Alternatif Bir Yaklaşım: Üç Boyutlu (3d) Yazıcı Teknolojisi Editör: Gül Hülya, Hayıt Fatma Basım Sayısı:(1) Sayfa:629 658 Yayınevi:: İksad Yayınevi Isbn: 978-625-8246-56-8
51. Myers, R. H., Montgomery, C. D., & Anderson-Cook, C. M. 2002. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments, **NJ: Wiley**, 856p, Hoboken
52. Radojković, M., Zeković, Z., Sudar, R., Jokić, S., & Cvetanović, A. 2013. Optimization of Solid-Liquid Extraction of Antioxidants and Saccharides From Black Mulberry Fruit by Response Surface Methodology. **Journal of Food and Nutrition Research**, **52**(3), 146–155

53. Ünsal P. 2022. Gilaburu Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonunda İşlem Parametrelerinin Optimize Edilmesi Ve Ekstraktların Enkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
54. Bayram, O. , Köksal, E. & Göde, F. 2020. Yanıt Yüzey Metodolojisi Şartlarında Karabaş Otu Yağının Kompleks Koaservasyon Yöntemi İle Enkapsülasyonu. **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **24** (2) , 508-515. DOI: 10.19113/sdufenbed.687943
55. Kaushik, V., & Roos, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. **Lwt - Food Science and Technology**, **40**, 1381-1391.
56. Rungsardthong Ruktanonchai, U., Srinuanchai, W., Saesoo, S., Sramala, I., Puttipipatkachorn, S., & Soottitantawat, A. 2011. Encapsulation of citral isomers in extracted lemongrass oil with cyclodextrins: molecular modeling and physicochemical characterizations. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, **75**(12), 2340–2345. <https://doi.org/10.1271/bbb.110523>
57. Sosa, Natalia; Schebor, Carolina; Pérez, Oscar E. 2014. Encapsulation of citral in formulations containing sucrose or trehalose: Emulsions properties and stability. **Food and Bioproducts Processing**, **92**(3), 266–274. doi:10.1016/j.fbp.2013.08.001
58. Ghasemi, S., Jafari, S.M., Assadpour, E., Khomeiri, M., 2018. Nanoencapsulation of D-limonen with in nanocarriers produced by pectin-whey protein complexes, **Food Hydrocolloids**, **77**:152-162.
59. Wang, J., Oussama Khelissa, S., Chihib, N. E., Dumas, E., & Gharsallaoui, A. 2019. Effect of drying and interfacial membrane composition on the antimicrobial activity of emulsified citral. **Food chemistry**, **298**, 125079. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125079>
60. Farouk A, El-Kalyoubi M, Ali H, Mageed MAE, Khallaf M, Moawad S. 2020. Effects of Carriers on Spray-dried Flavors and Their Functional Characteristics. **Pak J Biol Sci. Jan**;23(3):257-263. doi: 10.3923/pjbs.2020.257.263. PMID: 31944086.

61. Assadpour, Elham; Jafari, Seid-Mahdi 2017. Spray Drying of Folic Acid within Nano-Emulsions; Optimization by Taguchi Approach. *Drying Technology*, 07373937.2016.1242016-. doi:10.1080/07373937.2016.1242016
62. Assadpour, Elham; Maghsoudlou, Yahya; Jafari, Seid-Mahdi; Ghorbani, Mohammad; Aalami, Mehran 2016. Evaluation of Folic Acid Nano-encapsulation by Double Emulsions. **Food and Bioprocess Technology**, 9(12), 2024–2032. doi:10.1007/s11947-016-1786-y
63. Jafari, Seid Mahdi; He, Yinghe; Bhandari, Bhesh 2007. Encapsulation of Nanoparticles of d-Limonene by Spray Drying: Role of Emulsifiers and Emulsifying Techniques. **Drying Technology**, 25(6), 1069–1079. doi:10.1080/0737393-0701396758
64. Rachel Lutz; İbrahim Aserin; Louis Hasır; Nissim Garti 2009. Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate, 72(1), 121–127. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.03.024
65. Hosseini, Seyed Mohammad Hashem; Emam-Djomeh, Zahra; Sabatino, Paolo; Van der Meeren, Paul 2015. Nanocomplexes arising from protein-polysaccharide electrostatic interaction as a promising carrier for nutraceutical compounds. **Food Hydrocolloids**, 50, 16–26. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.04.006
66. Zimet P; Y.D. Livney 2009. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. 23(4), 1120–1126. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.10.008
67. Pikal, M., Roy, M., Shah, S., 1984. Importance of freeze-dried pharmaceuticals: role of the vial. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 73 (9): 1224-1237.
68. Jafari, S.M., He, Y.H., and Bhandari, B., 2006. Nanoemulsion production by sonication and microfluidization: A comparison, **International Journal of Food Properties**, 9, 475–485.
69. Chegini, G. R., And Ghobadian, B., 2005. Effect of Spray-drying Conditions on physical properties of Orange Juice Powder. **Drying Technology**, 23: 657-668

70. Dursun Çapar Tuğba 2020. Lutein Ve Likopen Enkapsülasyonunun Optimizasyonu Ve Biyoyararlılığının Artırılması Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
71. Hosseini SF, Zandi M, Rezaei M, Farahmandghavi F. 2013. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydr Polym.** Jun 5;95(1):50-6. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.02.031. Epub 2013 Feb 26. PMID: 23618238.
72. Peinado, Irene; Lesmes, Uri; Andrés, Ana; McClements, Julian D. 2010. Fabrication and Morphological Characterization of Biopolymer Particles Formed by Electrostatic Complexation of Heat Treated Lactoferrin and Anionic Polysaccharides. **Langmuir**, 26(12), 9827–9834. doi:10.1021/la1001013
73. Arroyo-Maya, I. J., & McClements, D. J. 2015. Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: Fabrication and properties. **Food research international**, 69, 1-8.
74. Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohm, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud C., Peyrat-Maillard M.N. And Dumoulin E., 2005 Oil Encapsulation By Spray Drying And Fluidised bed agglomeration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 6:29-35
75. Şahin, H. 2009. Dağ Çayından (*Sideritis stricta*) Çözünür Bitki Çayı Üretim Olanıklarının Araştırılması. Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Antalya, ss. 155.
76. Kılıç, G. B. & Karahan, A. G. 2010. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması. **Gıda**, 35 (6), 445-452 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/gida/issue/6894/92229>
77. Gbassi, GK; Yolou, FS; Sarr, SO; Atheba, PG; Amin, CN; Ake, M 2012. Whey proteins analysis in aqueous medium and in artificial gastric and intestinal fluids. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, 6(4), -. doi:10.4314/ijbcs.v6i4.38.
78. Tian, H., Lu, Z., Li, D., & Hu, J. 2018. Preparation and characterization of citral-loaded solid lipid nanoparticles. **Food chemistry**, 248, 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.091>.

79. Kher A, Udabage P, McKinnon I, McNaughton D, Augustin MA. 2007. FTIR investigation of spray-dried milk protein concentrate powders. **Vib. Spectrosc.**, **44**(2): 375-381.
80. Martiny, T. R., Pacheco, B. S., Pereira, C. M. P., Mansilla, A., Astorga-España, M. S., Dotto, G. L., Moraes, C. C., & Rosa, G. S. 2020. A novel biodegradable film based on κ -carrageenan activated with olive leaves extract. **Food science & nutrition**, **8**(7), 3147–3156. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1554>.
81. Jiang, Z. M., Bai, L. N., Yang, N., Feng, Z. B., Tian, B., 2017. Stability of betacarotene microcapsules with Maillard reaction products derived from whey protein isolate and galactose as coating materials. **Journal of Zhejiang University Science B**, **18** (10): 867-877.
82. Sharma S, Jaiswal S, Duffy B, Jaiswal AK. Nanostructured Materials for Food Applications: Spectroscopy, Microscopy and Physical Properties. *Bioengineering (Basel)*. 2019 Mar 19;6(1):26. doi: 10.3390/bioengineering6010026. PMID: 30893761; PMCID: PMC6466241.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Demet ATICI

Uyruğu: T.C.

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü	2023
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü	2015
Lise	Behice Yazgan Anadolu Kız Lisesi	2010

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2017-2019	Ali Başyazıcıoğlu Holding	Üretim Sorumlusu

YABANCI DİL

İngilizce