

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**NAR KABUĞU KAYNAKLI ELLAJİK ASİTİN BİYİYARARLILIĞINI
ARTIRMAYA YÖNELİK MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Nida PINARBAŞI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2023

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**NAR KABUĞU KAYNAKLI ELAJİK ASİTİN BİYİYARARLILIĞINI
ARTIRMAYA YÖNELİK MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Nida PINARBAŞI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NAR KABUĞU KAYNAKLI ELAJİK ASİTİN BİYOYARARLILIĞINI
ARTIRMAYA YÖNELİK MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Nida PINARBAŞI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FBA-2022-6039 nolu proje ile desteklenmiştir.**

OCAK 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NAR KABUĞU KAYNAKLI ELLAJİK ASİTİN BİYİYARARLILIĞINI
ARTIRMAYA YÖNELİK MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI**

Nida PINARBAŞI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 03/01/2022 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Danışman)	[imza]
Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN	[imza]
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ	[imza]

ÖZET

NAR KABUĞU KAYNAKLI ELLAJİK ASİTİN BİYİYARARLILIĞINI ARTIRMAYA YÖNELİK MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI

Nida PINARBAŞI

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Ocak 2023; 77 sayfa

Nar (*Punica granatum L.*) biyoaktif maddelerce zengin bir meyvedir. Nar genellikle taze meyve olarak, çoğunlukla da meyve suyuna işlenerek tüketilmektedir. Nar suyu işleme atığı olan nar kabuğu ise tüm meyvenin yaklaşık olarak %50'sini oluşturmaktadır. Polifenolik bir bileşik olan ellajik asitin oksidatif strese bağlı olan kanser, diyabet, otoimmün ve kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve nörodejeneratif bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde etkili bir bileşen olduğu belirlenmiştir.

Ellajik asit ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların birbirleriyle uyumlu olmadığı gözlemlenmiş ve sebepleri arasında bu bileşiğin sudaki çözünürlüğünün düşük olması, emiliminin sınırlı olması ve bireyler arasındaki mikroflora farkına bağlı olarak biyolojik etkinliğinin farklılık göstermesi belirtilmiştir. Yapılan çalışmalar ile ellajik asitin kolon mikroflorası tarafından ürolitin adı verilen bileşiklere metabolize edildiği görülmüş ve potansiyel sağlık etkilerinden ürolitin ve türevlerinin sorumlu olduğu öne sürülmüştür. Nitekim ürolitinlerin antioksidan, östrojenik, antienflamatuar ve antikanserojenik özellikler dahil olmak üzere, nörodejeneratif ve kardiyovasküler rahatsızlıklara karşı da etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada nar kaynaklı ellajik asitin farklı polaritelere ve emülsiyon kapasitesine sahip taşıyıcılar ile mikroenkapsülasyonu yoluyla sudaki çözünürlüğünün artırılması ve alt sindirim sisteminde probiyotik mikroorganizmalar tarafından metabolize edilerek ürolitinlere dönüştürülmesinin sağlanması ile biyoyararlılığının artırılması amaçlanmıştır.

Ellajik asidin biyoyararlılığını arttırmak için püskürterek kurutma sistemiyle gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işeminin optimizasyonunda bağımsız değişkenler olarak taşıyıcı materyal konsantrasyonu ve giriş havası sıcaklığı seçilmiştir. Taşıyıcı materyal olarak arabik gam, maltodekstrin ve inülin karışımı kullanılmıştır. Hava giriş sıcaklığının sınır değerleri olarak 130-190 °C belirlenmiş ve toz mikrokapsüller üretilmiştir.

Kullanılacak optimum taşıyıcı madde konsantrasyonları ve giriş sıcaklığı mikrokapsüllerin yüzde suda çözünürlüğü ve ellajik asit konsantrasyonu üzerinden hesaplanmış ve doğrulanmıştır. Bunun sonucunda optimum taşıyıcı materyaller ve oranları %20 maltodekstrin ve %10 inülin ve optimum giriş sıcaklığı ise 158°C olarak

bulunmuştur. Ayrıca %1.5 oranında β -siklodekstrin (β -SD) varlığının da optimum koşullar içerisinde olması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Belirlenen optimum formülasyonda üretilen mikrokapsüller kontrol örnekleriyle birlikte *in vitro* gastrointestinal sistemde sindirim testlerine tabi tutulmuş, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* ile ellajik asitin mikrobiyal fermantasyonu gerçekleştirilmiştir. Ticari ellajik asit ve mikroenkapsüle ellajik asitin ürolitin A ve ürolitin B'ye dönüşümü ve dönüşüm sonrası konsantrasyonları kıyaslanmıştır.

Ayrıca optimum koşullarda üretilen toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri 45 gün süreyle 4°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanmış ve depolamanın 0., 15., 30., 45. günlerinde ürünün fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler gerekli analizler (nem, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluk, sıkıştırılmış yoğunluk, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, ellajik asit, renk) yapılarak incelenmiştir. Optimum koşullarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin ellajik asit miktarı ve yüzde çözünürlük değerleri sırasıyla 12.77 g/100g KM ve % 10.77 olarak belirlenmiştir. İki farklı depolama sıcaklığında ve depolama süresince mikrokapsüllerin ellajik asit miktarları 12.77-10.40 g/100g ve çözünürlük oranları ise %10.77-%7.11 arasında değişmiştir. Araştırma sonuçlarına göre ellajik asidin biyoyararlılığını artırmak amacıyla optimize edilmiş koşullarda uygulanan enkapsülasyon tekniği ile elde edilen ellajik asit mikrokapsüllerinin suda çözünürlük değerinin ticari ellajik asite kıyasla 21.54 kat arttığı görülmüştür. Bu çözünürlük artışı kapsüllenmiş ellajik asidin model mide ve bağırsak sistemindeki salınımını ticari ellajik aside göre 1.74 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

Optimum koşullar altında üretilen ellajik asit mikrokapsülleri ile ticari ellajik asidin *B. pseudocatenulatum* varlığında gerçekleştirilen inkübasyon sonucunda inkübasyon süresi ve *B. pseudocatenulatum*'un mikrobiyal yüküne bağlı olarak ellajik asidin farklı düzeylerde ürolitin A ve ürolitin B'ye dönüşümleri gerçekleşmiştir. Ellajik asidin suda çözünürlüğünü destekleyen enkapsülasyonu yaklaşımı ile bu dönüşüm belirgin bir şekilde artmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Biyoyararlılık, ellajik asit, mikroenkapsülasyon, nar kabuğu, püskürterek kurutma

JÜRİ: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Danışman)

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

ABSTRACT

MICROENCAPSULATION STUDIES TO INCREASE THE BIOAVAILABILITY OF ELLAGIC ACID FROM POMEGRANATE PEELS

Nida PINARBAŞI

MSc Thesis in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

January 2023; 77 pages

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is a fruit rich in bioactive substances. Pomegranate is generally consumed as a fresh fruit, mostly by processing into fruit juice. Pomegranate peel, which is the waste of pomegranate juice processing, constitutes approximately 50% of the whole fruit, and there is a higher rate of ellagic acid in this waste compared to the pomegranate itself. It has been determined that ellagic acid, a polyphenolic compound, is an effective component in the treatment of various diseases such as cancer, diabetes, autoimmune and cardiovascular diseases, obesity and neurodegenerative disorders due to oxidative stress.

It has been observed that *in vivo* and *in vitro* studies with ellagic acid are not compatible with each other, and the reasons for this compound's low solubility in water, limited absorption, and differences in biological activity depending on the difference in microflora between individuals have been stated. Studies have shown that ellagic acid is metabolized by colonic microflora into compounds called urolithin, and it has been suggested that urolithin and its derivatives are responsible for its potential health effects. As a matter of fact, it has been determined that urolithins have effects against neurodegenerative and cardiovascular disorders, including antioxidant, estrogenic, anti-inflammatory and anticarcinogenic properties.

In this study, it was aimed to increase the water solubility of pomegranate-derived ellagic acid by microencapsulation with carriers of different polarities and emulsion capacities, and to increase its bioavailability by metabolizing it by probiotic microorganisms in the lower digestive tract and converting it to urolithins.

In order to increase the bioavailability of ellagic acid, carrier material concentration and inlet air temperature were chosen as independent variables in the optimization of the microencapsulation process performed with the spray drying system. A mixture of arabic gum, maltodextrin and inulin was used as carrier material. The limit values of the air inlet temperature were determined as 130-190 °C and powder microcapsules were produced.

The optimum carrier concentrations to be used and the inlet temperature were calculated and verified based on the percent water solubility and ellagic acid concentration of the microcapsules. As a result, the optimum carrier materials and ratios were found to be 20% maltodextrin and 10% inulin, and the optimum inlet temperature

was 158°C. In addition, it was concluded that the presence of β -cyclodextrin (β -CD) at a rate of 1.5% should be within optimum conditions.

Microcapsules produced in the determined optimum formulation were subjected to *in vitro* digestion tests in the gastrointestinal tract together with control samples, and microbial fermentation of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* and ellagic acid was performed. Conversion and post-conversion concentrations of commercial ellagic acid and microencapsulated ellagic acid to urolithin A and urolithin B were compared.

In addition, ellagic acid microcapsules in powder form produced under optimum conditions were stored at two different temperatures, 4°C and 25°C for 45 days, and changes in the physicochemical properties of the product (moisture, water activity, solubility) were analyzed on the 0th, 15th, 30th and 45th days of storage. , bulk density, compacted density, total phenolic substance, antioxidant activity, ellagic acid, color). The ellagic acid content and percent solubility values of ellagic acid microcapsules produced under optimum conditions were determined as 12.77 g/100g DM and 10.77%, respectively. The ellagic acid amounts of the microcapsules varied between 12.77-10.40 g/100g and their solubility ratios varied between 10.77% and 7.11% during storage at two different storage temperatures. According to the results of the research, it was observed that the water solubility value of the ellagic acid microcapsules obtained by the encapsulation technique applied under optimized conditions in order to increase the bioavailability of ellagic acid increased 21.54 times compared to the commercial ellagic acid. It was determined that this solubility increase increased the release of encapsulated ellagic acid in the model stomach and intestinal system 1.74 times compared to commercial ellagic acid.

As a result of incubation with ellagic acid microcapsules produced under optimum conditions in the presence of commercial ellagic acid in the presence of *B. pseudocatenulatum*, ellagic acid was transformed into urolithin A and urolithin B at different levels, depending on the incubation time and the microbial load of *B. pseudocatenulatum*. With the encapsulation approach of ellagic acid, which supports its water solubility, this conversion is markedly increased.

KEYWORDS: Bioavailability, ellagic acid, microencapsulation, pomegranate peel, spray drying

COMMITTEE: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Supervisor)

Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

ÖNSÖZ

Tez çalışması kapsamında nar kabuğunun ana biyoaktif maddesi olan ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri bilimsel çalışmalar ile kanıtlanmış ellajik asidin biyoyararlılığını arttırmak hedeflenmiştir. Bu amaçla gıda endüstrisinde de yoğun olarak kullanılan püskürterek kurutma tekniği ile mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiş olup biyoaktif maddelerin biyoyararlılığındaki en önemli parametrelerden biri olan suda çözünürlük değeri optimize edilen gerekli proses koşulları ile arttırılmıştır. Tez çalışması ile ellajik asidin sahip olduğu potansiyel biyolojik aktivitesinden, biyoyararlılığın artırılarak daha fazla yararlanılabileceği ve elde edilen toz mikrokapsüllerin gıda ürünlerine işlenerek fonksiyonel ürünlerin üretiminin gerçekleştirilebileceği öngörülmektedir.

Yapılan araştırmaların ve bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde;

Lisansüstü öğrenimim boyunca bana gerçek bir mühendis ve araştırmacı olmam için rehberlik eden, çalışmanın ve sorgulamanın ne kadar önemli olduğunu gösteren, bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan ve bu süreçte bana olan inancından dolayı danışman hocam sayın Prof. Dr. Ayhan TOPUZ'a (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım için laboratuvar imkanlarını kullanmama olanak sağlayan sayın Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN'e (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), lisansüstü eğitimim süresince beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Ferhan BALCI TORUN (Akdeniz Üniversitesi Turizm Fakültesi), Dr. Aslı ARSLAN KULCAN, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TORUN (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), Öğr. Görevlisi Emrah EROĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Firuze ERGİN'e (Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi) teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarımda kullandığım mikroorganizmanın temini konusunda destek sağlayan ve bünyesinde çalıştığım MEYKON Meyve ve Kaynak Suları San. ve Tic. A.Ş.'ye,

Tüm destekleri ve yardımları için yıllar sonra yeniden karşılaştığım ve her sıkıntıda yanımda olan gıda yüksek mühendisi Keziban Kübra GÜNGÖR olmak üzere, gıda yüksek mühendisi Serenay AŞIK, gıda yüksek mühendisi Tuğçe ATBAKAN KALKAN, gıda yüksek mühendisi Handan BAŞÜNAL GÜLMEZ ve bu süreci eğlenceli kılan tüm ekip arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında yanımda olan, varlıklarından güç aldığım, beni benden daha çok düşünen, bu süreçte göstermiş oldukları sabır ve fedakarlıklarından ötürü annem Dilek PINARBAŞI, babam Burhan PINARBAŞI ve kardeşim Buğra PINARBAŞI'na

Özellikle de en güzel hatıralarımda yer alan, kişiliğimin oluşmasında büyük role sahip olan ve bana kazandırdığı tüm manevi değerlerin ruhuma işlenmesini sağladığı için canım rahmetli anneannem Nebiha GÜNEL'e sonsuz teşekkür ederim.

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Nar Kabuğu Kaynaklı Ellajik Asidin Biyoyararlılığını Artırmaya Yönelik Mikroenkapsülasyon Çalışmaları” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

03/01/2023

Nida PINARBAŞI

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Nar (<i>Punica granatum</i> L.).....	3
2.2. Nar Kabuğu	5
2.3. Ellajik Asit.....	6
2.3.1.Ellajik asit kaynakları	7
2.3.2.Ellajik asit ve sağlık üzerine etkileri.....	9
2.3.3.Ellajik asit ve biyoyararlanımı.....	11
2.3.3.1. Ellajik asitin biyoyararlılığını arttırmaya yönelik çalışmalar	13
2.4. Enkapsülasyon.....	15
2.4.1.Taşıyıcı materyaller	17
2.4.2.Mikroenkapsülasyon teknikleri	20
2.4.3.Püskürterek kurutma.....	21
2.4.3.1. Püskürterek kurutma yöntemi ile yapılan enkapsülasyon çalışmaları	22
3. MATERYAL VE METOT.....	26
3.1. Materyal	26
3.2. Metot	26
3.2.1.Sıvı Dispersiyonun Hazırlanması ve Homojenleştirilmesi.....	26
3.2.2.Püskürterek Kurutma ile Dispersiyonların Mikroenkapsülasyonu ve Optimizasyonu	26
3.2.3.Model mide ve bağırsak sisteminde (<i>in vitro</i>) salınım testi:	28
3.2.4.Ellajik asitin mikrobiyal fermantasyonu.....	28
3.2.5.Ellajik asit mikrokapsüllerinin depolanması	29
3.3. Mikrokapsüllere Uygulanacak Analizler.....	30

3.3.1.Nem oranı:	30
3.3.2.Su aktivitesi:	30
3.3.3.Püskürterek kurutma için mikroenkapsülasyon verimi	30
3.3.4.Renk.....	30
3.3.5.Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk:	30
3.3.6.Toplam Fenolik Madde Miktarı:	30
3.3.7.DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) Radikali İndirgeme Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayini	31
3.3.8.Partikül boyut analizi.....	31
3.3.9.Çözünürlük	31
3.3.10. Ellajik asit, ürolithin A ve ürolithin B :.....	31
3.3.11. İstatistiksel analizler	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1. Püskürterek Kurutma Koşullarının Optimizasyonu	34
4.1.1.Püskürterek kurutma koşullarının ellajik asit miktarı üzerine etkisi	40
4.1.2.Püskürterek kurutma koşullarının çözünürlük üzerine etkisi	41
4.1.3.Püskürterek kurutma yöntemi ile ellajik asitin enkapsülasyonun, model mide ve bağırsak sisteminde (<i>in vitro</i>) ellajik asit salınımına etkisi.....	42
4.1.4.Püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilen ellajik asitin ürolitin A ve ürolitin B dönüşümüne etkisi	44
4.2. Püskürterek Kurutma Yöntemi ile Mikroenkapsüle Edilen Ellajik Asitin Fizikokimyasal Özellikleri	50
4.2.1.Nem Oranı ve Su Aktivitesi Değişimi	50
4.2.2.Renk Değerleri.....	52
4.2.3.Ellajik asit miktarı	54
4.2.4.Çözünürlük	55
4.2.5.Yığın Yoğunluğu ve Sıkıştırılmış Yoğunluk.....	57
4.2.6.Parçacık Boyutu.....	59
4.2.7.Antioksidan aktivite değişimi	60
4.2.8.Toplam fenolik madde değişim	61
5. SONUÇLAR	63
6. KAYNAKLAR.....	65
7. EKLER	74
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

$\leq$	: Küçük veya eşit
$\geq$	: Büyük veya eşit
%	: Yüzde
β	: Regresyon katsayıları
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
μm	: Mikrometre
a_w	: Su aktivitesi
cm	: Santimetre
$D_{[4,3]}$	: Hacim ağırlıklı ortalama çap
D_{10}	: Partiküllerin %10'unun belirtilen değerden küçük olduğu çap değeri
D_{50}	: Partiküllerin %50'sinin belirtilen değerden küçük olduğu çap değeri
D_{90}	: Partiküllerin %90'ının belirtilen değerden küçük olduğu çap değeri
d/dk	: Devir/dakika
kg	: Kilogram
L	: Litre
mL	: Mililitre
nm	: Nanometre
p	: Önemlilik derecesi
ρ_b	: Yığın yoğunluğu (g/cm^3)
ρ_t	: Sıkıştırılmış yoğunluk (g/cm^3)
R^2	: Regresyon katsayısı
s	: Saniye

Kısaltmalar

Abs : Absorbans değeri

ANOVA : Varyans analizi

EA : Ellajik Asit

ET : Ellajitanen

DPPH : 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil

HAO : Hacim ağırlıklı ortalama

HPLC : Yüksek basınç sıvı kromatografisi

SD : Serbestlik derecesi

SH : Standart hata

SPSS : Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket (Statistical Package for the Social Science)

TEAA : Troloks eşdeğeri antioksidan aktivite

Üro-A : Ürolitin A

Üro-B : Ürolitin B

YAO : Yüzey ağırlıklı ortalama

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Nar meyvesi (<i>Punica granatum</i> L)	3
Şekil 2.2. Ellajik asidin yapısı	6
Şekil 2.3. Ellajik asit üretimi için punikalajinin hidrolizi	7
Şekil 2.4. Punikalajin ve ellajik asitin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.5. Ellajik asit ve sağlık üzerine etkileri.....	11
Şekil 2.6. Ellajik asit ve ürolitinlerin kimyasal yapısı	12
Şekil 3.1. Püskürterek kurutucu kullanılarak mikrokapsül üretimi	27
Şekil 3.2. <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> DSM 20438 için hazırlanmış besiyerleri (Medium 58).....	29
Şekil 4.1. Sıcaklık ve taşıyıcı materyal parametrelerinin ellajik asit konsantrasyonu üzerine etkisi	37
Şekil 4.2. Sıcaklık ve taşıyıcı materyal parametrelerinin çözünürlük üzerine etkisi	40
Şekil 4.3. <i>B. pseudocatenulatum</i> ile bakteriyel yük ve inkübasyon süresine bağlı ürolitin A değişimi	48
Şekil 4.4. <i>B. pseudocatenulatum</i> ile bakteriyel yük ve inkübasyon süresine bağlı ürolitin B değişimi	49
Şekil 4.5. Optimum şartlarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin parçacık boyutu dağılımı	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Yıllara göre ülkemizdeki nar üretim miktarları	4
Çizelge 2.2. Çeşitli bitkilerin meyvelerinde ve tohumlarında bulunan ellajik asit miktarları	8
Çizelge 2.3. Farklı enkapsülasyon tekniklerinin prensipleri, aktif maddenin yapısı ve bu enkapsülasyon tekniklerinin başlıca işlem basamakları	20
Çizelge 3.1. Karışım desenine göre belirlenen taşıyıcı madde karışım oranları ve giriş sıcaklıkları	27
Çizelge 3.2. Ellajik asit analizi HPLC koşulları	32
Çizelge 3.3. Ürolitin A ve Ürolitin B Analizi HPLC Koşulları.....	32
Çizelge 4.1. Püskürterek kurutma yöntemi ile edilen mikrokapsüllerin deneme deseni ve analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4.2. Ellajik asit değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu ve model uygunluğunu test edebilmek için kullanılan istatistikler.....	35
Çizelge 4.3. Çözünürlük değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu ve model uygunluğunu test edebilmek için kullanılan istatistikler.....	38
Çizelge 4.4. Püskürterek kurutma yöntemi ile optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin teorik ve deneysel sonuçları.....	40
Çizelge 4.5. Optimum koşullarda üretilmiş ellajik asit mikrokapsülü ve ticari ellajik asit tozlarının <i>in vitro</i> mide ve bağırsak koşulları altında ellajik asit konsantrasyonu	42
Çizelge 4.6. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-A üretimi ve konsantrasyon değerleri değişimi	45
Çizelge 4.7. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-B üretimi ve konsantrasyon değerleri değişimi (ppm).....	45
Çizelge 4.8. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin A üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları	45
Çizelge 4.9. Optimum koşullar altında üretilmiş ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-A üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları	46
Çizelge 4.10. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin B üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları	47

Çizelge 4.11. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin B üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları	47
Çizelge 4.12. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem ve su aktivitesi oranları değişimi (%).....	50
Çizelge 4.13. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem değerlerine ait varyans analizi sonuçları	51
Çizelge 4.14. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	51
Çizelge 4.15. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı su aktivitesi değerlerine ait varyans analizi sonuçları	51
Çizelge 4.16. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı su aktivitesi değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	52
Çizelge 4.17. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı L, a, b değerleri değişimi	53
Çizelge 4.18. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak L, a, b değerlerine ait varyans analizi sonuçları	53
Çizelge 4.19. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak L, a, b değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	54
Çizelge 4.20. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı ellajik asit miktarı değişimi (g/100g KM)	54
Çizelge 4.21. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak ellajik asit miktarlarının (g/100g KM) ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları.....	55
Çizelge 4.22. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak ellajik asit miktarlarına (g/100g KM) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	55
Çizelge 4.23. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı çözünürlük değerleri değişimi	56
Çizelge 4.24. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak çözünürlük değerlerine ait varyans analizi sonuçları	56

Çizelge 4.25. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak çözünürlük değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	56
Çizelge 4.26. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluğu değerleri değişimi (g/cm^3).....	57
Çizelge 4.27. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yığın yoğunluğu değerlerinin ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları.....	58
Çizelge 4.28. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak sıkıştırılmış yoğunluğu değerlerine ait varyans analizi sonuçları.....	58
Çizelge 4.29. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yığın yoğunluğu değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	58
Çizelge 4.30. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak sıkıştırılmış yoğunluğu değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları	59
Çizelge 4.31. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin partikül boyutu (μm) analiz sonuçları.....	59
Çizelge 4.32. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı antioksidan aktivite (g TEAA/100 g KM) değerleri	61
Çizelge 4.33. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analizi sonuçları	61
Çizelge 4.34. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	61
Çizelge 4.35. Püskürterek kurutma yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı toplam fenolik madde değişimi (g/100 g KM).....	62
Çizelge 4.36. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak toplam fenolik madde değerlerinin ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları.....	62
Çizelge 4.37. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak toplam fenolik madde değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	62

1. GİRİŞ

İnsanların beslenme ile ilgili tutumlarının değişmesi ve tüketicilerin bir gıda maddesinde aradığı kriterlerin içerisinde artık sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlamasını istemesi ve doğal bileşenlere yönelmesi, gıda endüstrisinde fonksiyonel gıda pazarının oluşmasını sebep olmuştur. Bu amaçla birçok ürün grubuna ilave edilebilen ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri gerekli çalışmalar ile kanıtlanmış olan fitokimyasallar ön plana çıkmaktadır.

Günümüzde, ucuz ve uygun bir fonksiyonel bileşik kaynağı olarak gıdanın ve tarımsal-endüstriyel atıkların değerlendirilmesine yönelik genel bir eğilim vardır. Atıkların değerlendirilmesine yönelik bir alternatif, bu kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasıdır. Çünkü bu hammaddeler gıda, kozmetik veya ilaç endüstrilerinde yüksek potansiyele sahip bileşiklerin önemli bir kısmını temsil etmektedir (Amyrgialaki vd. 2014). Ayrıca, gıda endüstrisi yan ürünlerinin uygun yönetiminin, gıda kaybını azaltarak çevresel ve ekonomik faydalar sağlayabileceği düşünülmektedir (Pattnaik vd. 2021).

Bu bağlamda öne çıkan ürünlerden olan nar meyvesi (*Punica granatum L.*), atık olarak kabul edilen ancak yenilebilir kısımlara kıyasla daha yüksek miktarlarda fonksiyonel olarak değerli ve biyolojik olarak aktif bileşenler içeren nar kabuğu ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır.

Fenolik bileşikler veya fenolik fitokimyasallar, doğada en bol bulunan bileşik gruplarından birini oluşturan ve hem insan hem de hayvan diyetlerinin önemli bir bileşenini oluşturan bitki kaynaklı ikincil metabolitlerdir (Vattem ve Shetty 2005). Ellajik asit ise nar kabuğunun başlıca etken maddelerinden biri olup antioksidan aktivitesi nedeniyle, fonksiyonel gıda endüstrilerinde kullanılabilecek bir fenolik fitokimyasaldır. Ellajik asidin biyolojik etkinliği ve potansiyel sağlık yararları ellajik asidin biyoyararlılığının korunmasına ve/veya artırılmasına bağlıdır. Ancak, elajik asidin sudaki zayıf çözünürlüğü ve dolayısıyla zayıf biyoyararlılığı terapötik faydasını azaltmakta ve oral uygulamada klinik kullanımını sınırlamaktadır.

Literatürde elajik asit ile ilgili çalışmalar incelendiğinde *in vivo* ve *in vitro* düzeyindeki sonuçlarının birbirleri ile yeterince uyumlu olmadığı, dolayısıyla ellajitanenlerin ve elajik asit absorpsiyonunun çok düşük olduğu ve emilmeyen bileşiklerin kolondaki bağırsak mikrobiyotası tarafından ürolitin adı verilen bileşiklere metabolize edildiği belirlenmiştir (Gonzalez-Barrio vd. 2011). Ürolitinler, ellajik asidin lakton halkalarından birinin açılması ve dekarboksilasyonu ve hidroksillerin farklı pozisyonlardan ardışık olarak çıkarılmasıyla oluşan metabolitleri oluşturmaktadır. Elajik asidin bu zayıf biyoyararlanımının belirlenmesi ve geniş bağırsak katabolizması, gerçek biyoaktif moleküllerin ellajitanenler veya ellajik asitten ziyade ürolitinler olabileceğini düşündürmektedir (Espín vd. 2013). Çünkü bu metabolitler, farklı hidroksil ikameleri ve daha lipofilik bir karaktere sahip dibenzopiran-6-on türevleri olduklarından, elajik aside kıyasla kolon epitelinde daha yüksek absorpsiyon oranı göstermektedirler ve bu da 25-80 kat daha fazla biyoyararlılık sağlamaktadır (Seeram vd. 2006).

Gerçekleştirilmesi planlanan tez çalışmasının başarıya ulaşması halinde yüksek oranda biyoaktif madde içeren ve her yıl tonlarca atık oluşturan nar kabuklarının değerlendirilmesi, yapılan işlemler doğrultusunda biyoyararlanımının da artırılarak

fonksiyonel özelliklerinin zenginleştirilmesi ve elde edilen mikrokapsüllerin birçok gıda ürününe katkılanabilme potansiyeline sahip olması ve bu sayede katma değere sahip alternatif fonksiyonel gıdalar üretilerek ülke ekonomisine katkıda bulunması hedeflenmektedir.

Bu çalışmada;

- Püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde nar kabuğu etken maddesi olan ellajik aside kullanılan taşıyıcı materyaller ile (maltodekstrin, arabik gam, inülin) ile suda çözünür ve prebiyotik bir karakter kazandırılmış ve bu noktada literatürde yer alan sınırlı sayıdaki püskürterek kurutma yöntemi ile elajik asidin enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Biyoyararlılığı artırılmış elajik asit mikrokapsüllerinin üretiminde püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı ve taşıyıcı maddelerin karışım oranlarının etkisi değerlendirilmiştir.
- Çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen elajik asit mikrokapsüllerine biyoyararlılık, mikrobiyal, kimyasal ve fiziksel analizler gerçekleştirilmiştir. Böylece elde edilen suda çözünür formdaki elajik asit mikrokapsüllerinin ve işlenmemiş, suda çözünmeyen formdaki elajik asidin gastrointestinal sistemdeki korunumu ve konsantrasyon değişimi belirlenmiştir.
- Çalışmada kullanılan olan *Bifidobacterium pseudocatenulatum* suşları ile enkapsüle ellajik asit ve ham elajik asidin inkübasyon zamanına bağlı konsantrasyon değişim grafiğinin oluşturulmuş ve ürolitin konsantrasyonuna bağlı olarak biyoyararlılığının artırılıp artırılmadığının gözlemlenmiştir. Bu amaçla maksimum ürolitin konsantrasyonunun elde edildiği koşullara ulaşılmış ve kinetik parametreler belirlenmiştir.
- Elde edilen biyoyararlılığı arttırılmış ellajik asit mikrokapsülleri 2 farklı sıcaklıkta 45 gün süre ile depolanmış ve mikroenkapsülasyon işleminin ellajik asitin stabilizasyonu ve biyoyararlılığına bağlı etkisi incelenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Nar (*Punica granatum* L.)

Nar tropik ve subtropik iklimlerde yetişen çok yıllık bir bitkidir. Bilinen en eski meyvelerden biridir ve binlerce yıldır çeşitli kültürlerde yaygın olarak tüketilmektedir. Punicaceae familyasının punica cinsine ait olup baskın tür olarak kabul edilen narın (*Punica granatum*) anavatanı İran, Afganistan, Çin ve Hindistan'dır ve uzun yıllardır Akdeniz ülkelerinde de yetiştirilmektedir (Jacob vd. 2019).

Dünya çapında yetiştirilse de nispeten sıcak ve kuru bir Akdeniz iklimini tercih eden nar meyvesi, ülkemizde başta Akdeniz olmak üzere Ege ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yoğun olarak üretilen, ekonomik potansiyeli yüksek, ihracatı yapılan en önemli ürünlerimiz arasındadır. En yoğun üretim Akdeniz bölgesinde gerçekleştirilirken en çok üretimin gerçekleştirildiği şehrimiz ise Antalya'dır.



Şekil 2.1. Nar meyvesi (*Punica granatum* L.) (Anonim 1)

Çizelge 2.1’de üretimi, tüketimi ve ticareti her geçen gün artan nar meyvesinin yıllara göre ülkemizdeki üretim miktarları belirtilmektedir.

Çizelge 2.1. Yıllara göre ülkemizdeki nar üretim miktarları (TÜİK, 2021)

Yıl	Nar Üretim Miktarı (Ton)
2010	208502
2011	217572
2012	315150
2013	383085
2014	397335
2015	445750
2016	465200
2017	502606
2018	537847
2019	559171
2020	600021
2021	647676

İnsan sağlığına faydaları olduğu bilimsel çalışmalar ile kanıtlanmış olan nar meyvesi, son yıllarda tüketiciler tarafından büyük ilgi görmektedir. Narın tedavi edici ve hastalıkları önleyici özellikleri hakkındaki bilimsel çalışmalar narın üretimi ve tüketimini de arttırmıştır. (Singh vd. 2018)

Nar meyvesi taze olarak tüketilmesinin yanı sıra, son yıllarda meyve suları, alkollü içecek, reçel, kurutulmuş meyve, besin lifi, infüzyon yapmak için kurutulmuş kabuklar ve narın farklı kısımlarından elde edilen ekstraktları içeren toz kapsüller ve tabletler ile çeşitli formlarda fonksiyonel gıda bileşenleri ve diyet takviyeleri üretiminde kullanılmaktadır (Wu ve Tian 2017). Bu sayede endüstriyel olarak işlenmiş ürünlere olan talepte bir artış olmuştur (Hmid vd. 2018). Nar ve diğer kısımlarının kullanımına yönelik artan bu ilgi, başta gıda endüstrisi olmak üzere tıp, ilaç ve kozmetik endüstrilerinin artan talebini (Kerimi vd. 2017) karşılayabilecek fitokimyasal bileşikler yoğun oranda içermesinden kaynaklanmaktadır. Gıdalardaki biyoaktif bileşikler, metabolik süreçler üzerinde etkisi olan ve sağlık yararları ile sonuçlanabilen fitokimyasallar olarak tanımlanabilir (Uluslararası Gıda Bilgi Servisi 2009). Nar meyvesi, belirli meyvelerin üstün beslenme niteliklerini ve sağlığı geliştirici fitokimyasallarını vurgulamak için kullanılan bir terim olan Süper Meyveler grubunun bir parçası olarak kabul edilir (Malgarejo-Sánchez vd. 2021).

Nar meyvesinde bulunan fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler gibi önemli miktarlarda biyoaktif bileşiklerin varlığı, ona önemli miktarda besin değeri sağlamaktadır (Viuda-Martos vd. 2010)

Nar meyvesinin sağlığa faydaları sadece yenilebilir kısımla sınırlı olmamakla birlikte, aynı zamanda yenilebilir kısımdan daha fazla biyolojik olarak aktif bileşikler içeren yenmeyen kısımlarla, özellikle de nar kabuğu ile çeşitli potansiyel biyolojik aktivite sergilemektedir. Literatürde narın tüketilebilen ve atık olarak nitelendirilen kısımları ile yapılan çalışmalarda; antioksidan, antikanser, antienflamatuvar, anti-

nörodejeneratif, antimikrobiyal, antiaterosklerotik, antidiyabetik etkileri ve daha fazlası da kanıtlamıştır.

2.2. Nar Kabuğu

Nar meyvesi ağırlıkça yaklaşık %40-50'sini ve nar atıklarının %78'lik kısmını oluşturan nar kabuğu, meyve işleme endüstrisinde yeni bir biyoaktif bileşen kaynağı olarak kabul edilmektedir (Singh vd. 2018).

Yapılan çalışmalarda narın kabuk, mezokarp ve suyunda 9 antosiyanin, 2 gallotanen, 2 ellajitanenler, 2 gallagil ester, 4 hidroksibenzoik asit, 7 hidroksisinamik asit, ve 1 dihidroflavonol olmak üzere toplam 47 fenolik madde tespit edilmiştir. Özellikle nar kabuğunun flavonoidler (antosiyenin, kateşin ve diğer kompleks flavonoidler) ve tanenler (punikalın, punikalajin, gallik asit ve ellajik asit) açısından zengin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Akhtar vd. 2015). Singh vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise nar kabuğunun elajitanen konsantrasyonunun narın yenilebilir kısmına kıyasla daha yüksek olduğu ve hidrolize edilebilir formda bulunan bu ellajitanenlerin (punicalajin, punikalın, ellajik asit) en yüksek antioksidan aktiviteye sahip polifenollerden olduğu bildirilmiştir. Nar kabuğunun çeşitli biyolojik etkileri ve farmakolojik özellikleri olduğu bilinmektedir (Singh vd. 2018). Antioksidatif, antikanser, immunomodülatör ve antimutajenik etkileri birçok çalışmada rapor edilen nar kabuğu ayrıca içeriğinde bulunan biyoaktif maddelerin varlığı ile kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite ve Alzheimer dahil olmak üzere çeşitli kronik patolojik durumların önlenmesi ve tedavisi ile de ilişkilendirilmiştir (Kandyliş ve Kokkinomagoulos 2020, Ko vd. 2021)

Günümüzde bitkisel kaynaklı fonksiyonel gıdalara artan eğilimde narın çok önemli bir yeri olduğu bilinmektedir. Ancak nar meyvesine kıyasla nutrasötik açıdan daha aktif olan nar kabuğuyla ilgili gıda sistemlerinde yeterince uygulama bulunmamaktadır. Literatür araştırmaları doğrultusunda nar kabuğu ekstraktı kullanılarak; et, balık, kümes hayvanları, süt ürünleri ve ayrıca yenilebilir sıvı ve katı yağlar gibi model gıdalarla olan çalışmalara rastlanılmıştır ve bu gıdalara nar kabuğu ekstraktı ilavesinin, işleme/depolama koşullarında raf ömürlerinin yanı sıra fizikokimyasal ve mikrobiyolojik stabiliteyi arttırdığını göstermiştir (Kaderides vd. 2021).

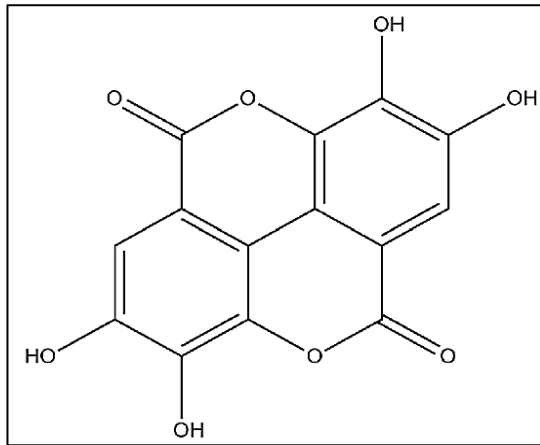
Kanatt vd. (2010) yapmış oldukları çalışma ile tavuk ürünlerine %0,1 sulu nar kabuğu ekstraktı ilave etmişler ve bu uygulamanın ürünlerin duyu niteliklerini etkilemeden raf ömürünü 2-3 hafta arttırdığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca nar kabuğu ekstraktı *Staphylococcus aureus*'un çoğalmasını geciktirerek önemli bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bunlara ek olarak depolama süresince kontrol numunesinde nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş tavuk ürününe kıyasla daha yüksek bir oksidatif ransidite tespit edilmiştir. Derin kızartma veya ısıtma işlemi sırasında ayçiçek yağının oksidatif stabilitesini arttırmak amacıyla nar kabuğu ekstraktının kullanıldığı bir çalışma ile nar kabuğu ekstraktının doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği ve yağlı ürünlerin raf ömrünü uzatabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Bashir vd. 2020). Sandhya vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada peyniraltı suyu protein konsantresi ve yağsız süt tozu kullanılarak nar kabuğu ekstraktı tozu hazırlanmış ve farklı konsantrasyonlarda (%0.5-1.5) kullanılarak lorun fonksiyonel özellikleri ve depolama stabilitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda nar kabuğu ekstraktı tozundaki artışın hem

toplam fenolik madde içeriğinin hem antioksidan aktivitenin artmasını sağlamış hem de ürünün raf ömrünü 6 gün arttırmıştır. Ancak nar kabuğu ekstraktı tozunun konsantrasyonunun artırmasına bağlı olarak duyuusal özelliklerde azalmaya sebep olmuştur.

2.3. Ellajik Asit

Pek çok tanenin, sıcak su, asitler, bazlar veya enzimlerle muamele edilerek hidrolitik olarak bileşenlerine ayrılabilceği gözlemi, bu tür tanenlerin 'hidrolize edilebilir tanenler' olarak sınıflandırılmasına yol açmıştır. Hidrolize edilemeyen oligomerik ve polimerik proantosiyanidinler, kondense tanenler olarak sınıflandırılır. Hidrolize olabilen tanenler de kendi içerisinde gallotanenler ve ellajitanenler olarak iki gruba ayrılmaktadır: Bu sebeple "hidrolize edilebilir tanenler" terimi hem gallotanenleri hem de ellajitanenleri içerir (Khanbabaee ve Van Ree 2001). Ellajik asit (EA), bitkilerde bitki hücre duvarının ve hücre zarının yapısal bileşenleri olan ellajitanen formunda bulunur (Vattem ve Shetty 2005). Polifenollerin hidrolize edilebilir tanen sınıfına ait olan ellajitanenler ea'nın kompleks bir türevleridir (Quideau ve Feldman 1996)

Gallik asidin dimerik türevi olarak bilinen EA fizikokimyasal açıdan; erime noktası 360 °C'nin üzerinde, kaynama noktası 796,5°C, koyu sarı kristal toz formunda, molekül ağırlığı 302.197 g mol⁻¹ olan termal stabilite açısından oldukça kararlı bir fenolik maddedir (Fotie 2010). IUPAC terminolojisine göre EA,2,3,7,8-tetrahidroksikromeno [5,4,3-cde] kromen-5,10-dion olarak tanımlanır ancak kimyada en yaygın tanımlama, 4,4',5,5',6,6'-heksahidroksi difenik asit 2,6,2 di lakton şeklindedir (Evtyugin vd. 2020). Kimyasal yapısı Şekil 2.2'de gösterilen EA hem hidrofilik kısmı temsil eden dört hidroksil ve iki lakton gruplu hem de iki hidrokarbon bifenil halkasından oluşan düzlemsel bir lipofilik parçayı kapsamaktadır. EA yapısı sayesinde, hem hidrojen bağı alıcı (lakton) hem de verici (-OH) bölgelere sahiptir (Zuccari vd. 2020).

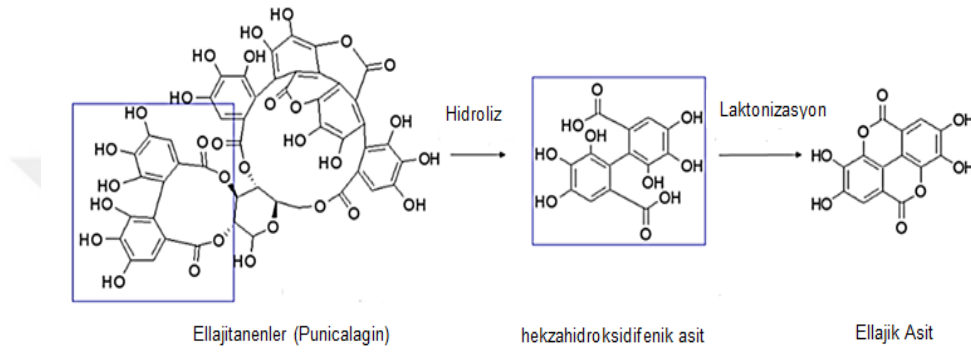


Şekil 2.2. Ellajik asidin yapısı (Savic vd. 2019)

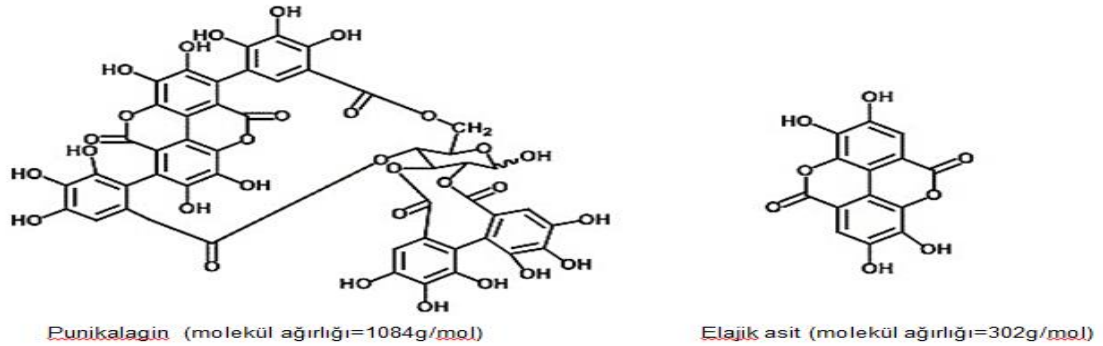
Suda çözüneabilen yüksek moleküler ağırlıklı ellajitanenler, asitler veya bazlarla hidrolize olduklarında; ester bağlarının parçalanması sonucu ilk olarak heksahidroksidifenik asit (HHDP) grubunun oluşmasının ardından bu asitin

kendiliğinden laktonize olmasıyla suda çözünürlüğü zayıf olan ellajik aside (EA) dönüşümü gerçekleşir (Clifford ve Scalbert 2000). (Şekil 2.3)

Nar kabuğunun ana biyoaktif maddesi olan elajik asit, bitkilerde ikincil metabolit olarak oluşan elajitaninlerin nara özgül formu olan punikalajinin hidrolizi sonucu açığa çıkmaktadır. (Şekil 2.4)



Şekil 2.3. Ellajik asit üretimi için punikalajinin hidrolizi (Zuccari vd. 2020)



Şekil 2.4. Punikalajin ve ellajik asitin kimyasal yapısı (Seeram vd. 2005)

2.3.1. Ellajik asit kaynakları

Çok sayıda meyve ve sebzede, doğal olarak oluşan bir fenolik lakton bileşiği olan ellajik asit başlıca nar, hurma, ahududu, kıvılcık, yaban çileği, şeftali, erik, ceviz, badem ve diğer bitkisel gıdalarda bulunmaktadır (Derosa vd. 2016). Terapötik etkiye sahip olan ellajik asidin meyvelerdeki miktarı birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir.

Sharifi-Rad vd. (2022) farklı bitkilerin meyvelerinde ve tohumlarında bulunan ellajitanenlerin hidrolizinden sonra oluşan toplam ellajik asit miktarını dikkate alarak Çizelge 2.2’de derlemişlerdir.

Çizelge 2.2. Çeşitli bitkilerin meyvelerinde ve tohumlarında bulunan ellajik asit miktarları

Bitki Türü	Yaygın Adı	EA İçeriği (mg/kg)
<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh.) K.Koch	Pikan Cevizi	330 ^a
<i>Castanea sativa</i> Mill.	Anadolu Kestanesi	340-500 ^a (yaprak) 1410-3210 ^a (tohum kabuğu) 240-900 ^a (dış kabuk) 800-1370 ^a (iç kabuk)
<i>Fragaria × ananassa</i> (Weston) Duchesne ex Rozier	Çilek	630 ^a 683–853 ^b
<i>Hippophae rhamnoides</i> L.	Yalancı İğde	10 ^b
<i>Juglans nigra</i> L.	Kara Ceviz	590 ^a
<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh	Kamu Kamu	258.5 ^a (posa) 5657 ^a (toz)
<i>Psidium guajava</i> L.	Guava	57.2–306 ^a
<i>Punica granatum</i> L.	Nar	700 ^a (taneler) 38700 ^a (mezokarp)
<i>Rosa rugosa</i> Thunb.	Kuşburnu	1096 ^b
<i>Rubus arcticus</i> L.	Arktik Böğürtlen	3900 ^b
<i>Rubus chamaemorus</i> L.	Norveç Böğürtleni	3151 ^b
<i>Rubus idaeus</i> L.	Ahududu	1500 ^a 2637–3309 ^b
<i>Rubus ursinus</i> Cham. & Schtdl.	Böğürtlen	1500 ^a

Devamı arkada

Çizelge 2.2'nin devamı

Bitki Türü	Yaygın Adı	EA İçeriği (mg/kg)
<i>Rubus ursinus</i> × <i>Rubus idaeus</i>	Böğürtlen	4960 ^a 1684 ^a
<i>Terminalia ferdinandiana</i> Exell	Kakadu Eriği	8796 ^a
<i>Vaccinium</i> spp.	Kızılcık	120 ^a
<i>Vitis rotundifolia</i> Michx.	Misket Üzümü	360–912 ^b

^aKuru madde bazında. ^bYaş ağırlık bazında.

Fischer vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada narın kabuk, mezokarp ve tanelerinden fenolik bileşikler ekstre edilip, ekstraktlar ile ve meyve suları, HPLC-DAD-ESI/MSⁿ ile karakterize edilmiştir. Analizler sonucunda 9 antosiyanin, 2 gallotannin, 2 ellagitannin, 2 gallagil ester, 4 hidroksibenzoik asit, 7 hidroksisinamik asit ve 1 dihidroflavonol olmak üzere toplam 48 bileşik tespit edilmiş ve araştırılan tüm numunelerde ellajitanenlerin baskın fenolikler olduğu bulunmuştur.

Lee vd. (2005) yapmış oldukları çalışma ile misket üzümünde (*Vitis Rotundifolia*) bulunan çeşitli ellajik asit türevlerini izole edip tanımlamış ve bunların nispi antioksidan özelliklerini (AOX) belirlemişlerdir. Bu çalışmada üç çeşit misket üzümü kullanılarak üzüm kabuklarından ve posasından metanol ile fenolik ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve HPLC'de baskın polifenolik bileşikler tespit edilmiştir. Misket üzümünün fenolik asitler, flavonoller, antosiyaninler, ellajik asit ve çok sayıda ellajik asit türevi içerdiği görülmüştür. Toplam ET miktarı ise 360–912 (yaş ağırlık) mg.kg⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

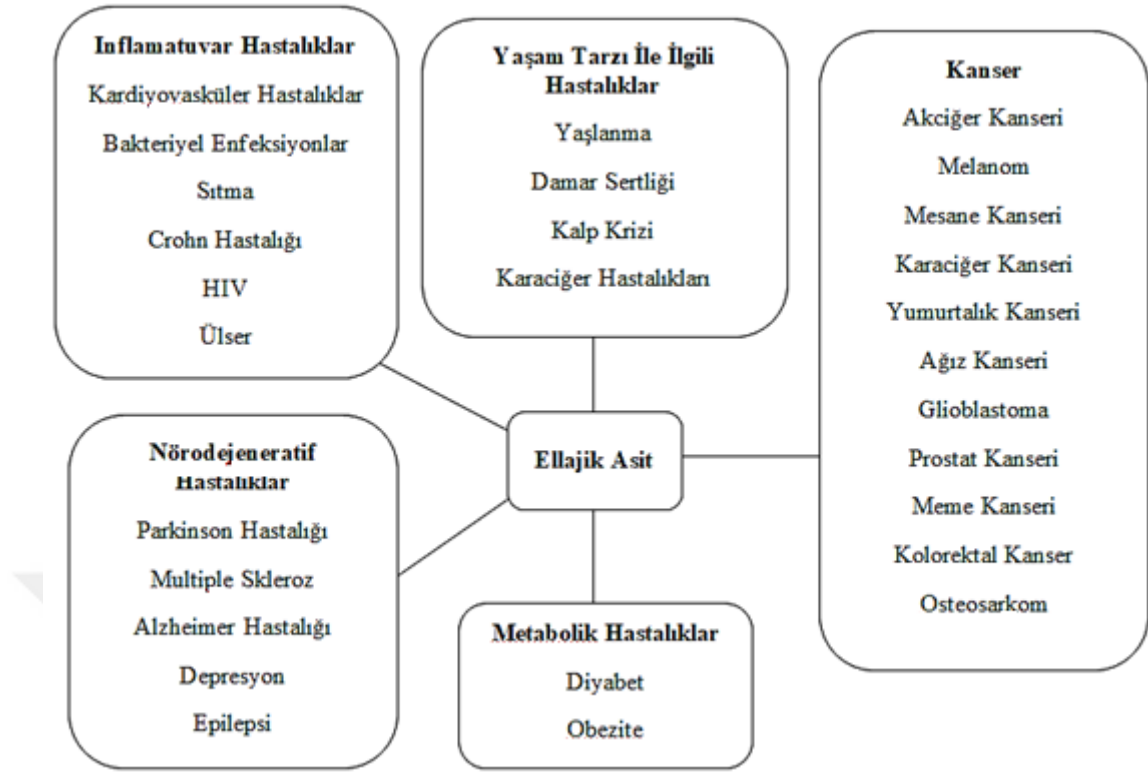
Daniel vd. (1989) çeşitli meyveler ve kabuklu yemişlerde bulunan ellajik asit miktarını tespit etmek için yapmış oldukları bu çalışmada aseton/su veya metanol kullanılarak dondurularak kurutulmuş meyveler, (armut, şeftali, erik, üzüm, elma, kivi) ve çeşitli kabuklu yemişlerden ellajik asit ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Analiz sonuçları test edilen her gıdanın, ellajik asit içerdiğini ancak yalnızca çilek (630 µg), ahududu (1500 µg), böğürtlen (1500 µg), ceviz (590 µg), pıkan cevizi (330 µg) ve kızılıcıktaki (120 µg ellajik asit/g km) ellajik asitin kalibrasyon aralığı içinde yer aldığını tespit etmişlerdir. Çilek ve ahududu meyvesinin farklı bölümlerinde ve meyve sularında bulunan ellajik asit miktarları kıyaslandığında ise çilekte ellajik asidin %95.7'si posada bulunurken, %4.3'ü çekirdekte bulunduğu, ahududunda da ise bu bileşiğin %87.8'si çekirdekte, %12.2'si ise posada bulunduğu belirtilmiştir. Her iki meyvenin suyunun da ihmal edilebilir miktarda ellajik asit içerdiği bildirilmiştir.

2.3.2. Ellajik asit ve sağlık üzerine etkileri

Çok sayıda çalışma ellajik asidin çeşitli biyolojik aktiviteye ve tıbbi uygulamalar için potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu bileşenin özellikle antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerden sorumlu olduğu bildirilmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalar,

elajik asit içeren bitki ekstraktlarının birçok farklı kanser hücresi için baskılayıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Ríos vd. 2018). Sağlık üzerine oldukça fazla etkisinin olması sebebiyle birçok araştırmacının dikkatini çeken elajik asit ile ilgili yapılmış çok sayıda bilimsel çalışma mevcut olup bu çalışmaların sonucunda ellajik asidin antibakteriyal (Funatogawa vd. 2004), antifungal (Ascacio-Valdés vd. 2013), antiinflamatuvar (Baradaran Rahimi vd. 2020), hepatoprotektif (Aslan vd. 2018), antiepileptik (Dhingra ve Jangra 2014), nöroprotektif (Jha vd. 2018) ve antikarsinojenik aktivite (Zhang vd. 2014) gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan çok yönlü bu çalışmalar ile ellajik asitin ; hastalıkları önleyici ve tedavi edici etkileri kanıtlanmıştır.

Ellajik asitin çok yönlü biyoaktivitesinin temelindeki mekanizmalar, esas olarak antioksidan etkisine, yaşlanma karşıtı gücüne ve fizyolojik aerobik metabolizmanın bir yan ürünü olan zararlı reaktif oksijen ve nitrojen türlerine (RONS) karşı koyma yeteneğine dayanır (Alfei vd. 2020). Vatterm vd.(2005) tarafından yapılan bir çalışmada elajik asit ve elajitanenlerin, antioksidan savunmada yer alan birkaç anahtar sinyal molekülü ile yapısal benzerlikler nedeniyle, gen ekspresyonunu tetikleyebildiği sonucuna ulaşılmıştır. Benzer şekilde, ellajik asitin nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidaz (NADPH) ve Sitokrom P450 (CYP) bağımlı faz I enzimleri gibi oksidatif stres üreten yollarda yer alan proteinlerin, enzimlerin ve transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu baskılayabildiği ve bu şekilde, yalnızca endojen ve eksojen reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynaklarının yönetimine değil, aynı zamanda antioksidan savunma mekanizmalarına da katıldığı sonucuna ulaşılmıştır. Losso vd. (2004) yapmış oldukları çalışma ile Caco-2, meme ve insan prostat kanseri hücreleri dahil olmak üzere farklı kanser hücrelerine in vitro çalışmalar ile elajik asidin (10-100 µM) kanser hücrelerine karşı sitotoksitesi ve anti-proliferatif aktivitesini gözlemlemeyi amaçlamışlardır. Yapılan analizlerle bu polifenolik bileşiğin uyguladığı güçlü antiproliferatif aktiviteyi ve ellajik asidin kanser hücrelerinin canlılığının azalmasını sağladığını bildirmişlerdir.



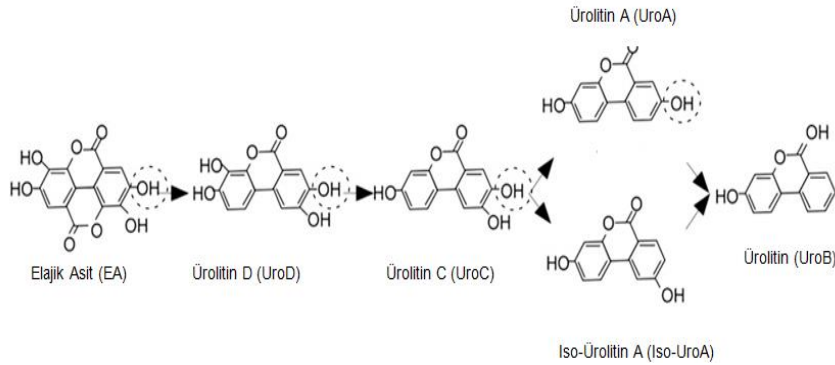
Şekil 2.5. Ellajik asit ve sağlık üzerine etkileri (Zuccari vd. 2020)

2.3.3. Ellajik asit ve biyoyararlanımı

Son zamanlarda ellajik asitin biyoyararlılığı ve biyoyararlılığının artırılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (Zuccari vd.2020). Biyoyararlılık, etken maddenin farmasötik şeklinden sindirim sisteminde emilerek dolaşım sistemine geçmesi ve böylece vücuttaki hedef noktaya veya ilişkili biyolojik sıvılara ulaşma hızı ve derecesi olarak tanımlanmaktadır (Federal Register 1998, Houin 1993). Buna göre intravenöz yolla verilen preparatların biyoyararlanımı %100 iken diğer uygulama yollarında, örneğin oral yoldan kullanımda farklı nedenlerle kayıplar yaşanabilir. İntravenöz yol dışında diğer yollarda vücuda verilen maddenin emilimiyle ilgili iki önemli parametre; emilim derecesi/oranı ve emilim hızıdır. Bu iki parametre o maddenin “biyoyararlılığını” belirlemektedir (Kayaalp vd. 2001).

Literatürde ellajik asit ile ilgili çalışmalar incelendiğinde *in vivo* ve *in vitro* düzeyindeki sonuçların birbirleri ile yeterince uyumlu olmadığı, dolayısıyla ellajitanenlerin ve ellajik asit emiliminin çok düşük olduğu ve emilmeyen bileşiklerin kolondaki bağırsak mikroflorası tarafından ürolitin (Şekil 2.6) adı verilen bileşiklere metabolize edildiği belirlenmiştir (Gonzalez-Barrio vd. 2011). Ürolitinler, ellajik asitin lakton halkalarından birinin açılarak dekarboksilasyona uğraması ve hidroksillerin farklı pozisyonlardan ardışık olarak çıkarılmasıyla oluşan metabolitleri oluşturmaktadır. Ellajik asidin bu zayıf biyoyararlanımının belirlenmesi ve geniş bağırsak katabolizması, gerçek biyoaktif moleküllerin ellajitanenler veya ellajik asitten ziyade ürolitinlerin olabileceğini

düşündürmektedir (Espín vd. 2013). Çünkü bu metabolitler, farklı hidroksil ikameleri ve daha lipofilik bir karaktere sahip dibenzopiran-6-on türevleri olduklarından, ellajik aside kıyasla kolon epitelinde daha yüksek absorpsiyon oranı göstermektedirler ve bu da 25-80 kat daha fazla biyoyararlılık sağlamaktadır (Seeram vd. 2006).



Şekil 2.6. Ellajik asit ve ürolitinlerin kimyasal yapısı (Zuccari vd. 2020)

Ellajitane açısından zengin gıdaların tüketimine bağlı olduğu düşünülen sağlık yararlarının, ürolitinlerin tanımlanması ve kolon, plazma ve sistemik dokularda önemli konsantrasyonlara ulaştığına dair mevcut bilgiye ulaşılmasıyla birlikte, ürolitinlere yönelik ilgi artmış ve ellajitaneğin sağlık üzerindeki bu olumlu etkilerinden ürolitinlerin sorumlu oldukları öne sürülmüştür (Cerdá vd. 2005b). Bu hipotez ile yapılan sonraki çalışmalarda, *in vitro* bulguların ellajik asit ve ürolitinlerin eşit derecede aktif olduğunu göstermesine rağmen, *in vivo* çalışmalarda vücut içi sıvı, hücre ve dokularda yalnızca ürolitin tespit edildiği ve asıl etkinin bu bileşenden kaynaklandığı belirlenmiştir (Alfei vd. 2020).

Bu bağlamda son on yılda yapılan çalışmalar ile ürolitinlerin, antioksidan (Jing vd. 2019), östrojenik (Adams vd. 2010), antiinflamatuvar (Singh vd. 2019) ve antikanserojenik (Zhao vd. 2018) özellikler dahil olmak üzere, nörodejeneratif (Lee vd. 2019) ve kardiyovasküler rahatsızlıklara karşı da etkilerinin olduğu belirlenmiştir (D'amico vd. 2021). Ancak ellajik asit metabolizması ve dolayısıyla oluşan ürolitinlerin türü ve miktarı, bireylerin sağlık ve yaş durumuna, çevresel ve yaşam koşullarına ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimine bağlı olduğu için ellajik asit açısından zengin gıdaların tüketilmesinin ürolitinleri oluşturmak için her zaman yeterli olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki bireyler arası değişkenlik nedeniyle, bireyler ürolitin üretme yeteneklerine göre metabotip A (ürolitin A üreticileri), metabotip B (ürolitin B ve/veya Iso ürolitin A üreticileri), metabotip 0 (ürolitin üreticisi olmayan) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır (Tomás-Barberán vd. 2017). Dolayısıyla bireysel metabolitlerin ürolitinlerin üretilmesi üzerindeki etkisinin önemli olduğu, bu metabolik süreci gerçekleştiremeyen bireylerde ürolitin üretiminin de gerçekleştirilemediği görülmüştür.

Ellajik asidin tam olarak metabolize edilmesi iki ürolitin alt tipinin, yani ürolitin A ve ürolitin B'nin ve bunların yapısal izomerlerinin Iso ürolitin A ve Iso ürolitin B'nin oluşması ile gerçekleşmektedir (Alfei vd. 2020). Ürolitin A ve B, kan ve dokularda bulunan başlıca ürolitinlerdir (Savi vd. 2017) ve ellajitaneğin açısından zengin gıdaların, ana mikrobiyal fenolik metabolitleri olarak adlandırılmaktadır. Ancak üretilen ürolitin

tipinin bağırsak mikroflorasını oluşturan bakteri tipine bağlı olduğu bilinse de; elajik asidin ürolitin A ve ürolitin B'ye tam dönüşümü için hala tespit edilemeyen diğer bakterilerin gerekli olduğu görülmüştür (Alfei vd. 2020). Sonuç olarak ürolitin üretimi *in vitro* olarak kanıtlanmış olmasına rağmen bu metabolik süreçte yer alan spesifik bakteriler henüz tam olarak bilinmemektedir (Landete 2011). Ancak Gaya vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada elajik asidi, son metabolitleri olan ürolitin A ve B'ye hızla metabolize eden/dönüşümünü gerçekleştirebilen *Bifidobacterium pseudocatenulatum* INIA P815 adlı bifidobakteriyal suş izole edilmiş ve tanımlanmıştır.

2.3.3.1. Ellajik asitin biyoyararlılığını arttırmaya yönelik çalışmalar

Ellajik asitin sudaki çözünürlüğünün ve emiliminin düşük olması, ilk geçiş etkisi ve bağırsak mikroflorası tarafından ürolitin türevlerine dönüşürken bireyler arası değişkenlik göstermesi, düşük biyoyararlanımının sebepleri arasında gösterilmektedir (Zuccari vd. 2020). Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada farklı ellajitanen/ellajik asit oranlarına sahip iki farklı ekstrakt tüketen sağlıklı insanlarda yapılan bir farmakokinetik çalışma, daha yüksek bir serbest ellajik asit alımının, daha yüksek bir ürolitin üretimini teşvik etmesine rağmen, sınırlı ellajik asit emilimi nedeniyle ellajik asit biyoyararlanımını arttırmadığını göstermiştir (González-Sarrias vd. 2015). Bu dezavantajların üstesinden gelebilmek için, katı dispersiyonlar, mikro ve nanopartiküller, inklüzyon kompleksleri, kendi kendine emülsifiye edici sistemler ve polimorflar dahil olmak üzere oral uygulama için çeşitli stratejiler üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. En yeni, yenilikçi ve yüksek düzeyde biyoyumlu ellajik asit formülasyonları, pektinle püskürterek kurutulmuş dispersiyon, siklodekstrin bazlı nanosüngerler, zein nanokapsüller, kitosan/aljinat mikroküreler, laktoferrin/kondroitin sülfat nanoparçacıkları ve süper doygun kendi kendine mikroemülsifiye edici dağıtım sistemlerinden oluşmaktadır (Zuccari vd. 2020). Literatürdeki bu araştırmaların ve yaklaşımların büyük bir çoğunluğunun biyomedikal ve farmasötik alanlarda olduğu görülmektedir. EA'nın terapötik etkisinden yeterli düzeyde faydalanabilmek için çözünürlüğünü, stabilitesini ve biyoyararlanımını arttıran stratejiler geliştirmek gereklidir. Ellajik asidin biyoyararlılığının artırılmasına yönelik literatür taramaları sonucunda bulunan mikro ve nano boyutlu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Yağmur ve Şahin (2020) tarafından yapılan çalışmada ellajik asit *Spirulina* algi kullanılarak liyofilizasyon ile mikroenkapsüle edilmiştir. Çalışmanın sonucunda ellajik asitin simüle edilmiş bağırsak sıvısındaki salınımının, mide sıvısındakinden daha hızlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Li vd. (2013) tarafından yapılan bir başka çalışmada ellajik asidin sudaki çözünürlüğünün artırılması amacıyla yarı kararlı amorf durumunda ellajik asidi bir polimere yakalamanın etkisini incelemek için selüloz türevleri kullanılarak amorf katı dispersiyonları oluşturulmuştur. Kullanılan polimerler arasından hidroksipropilmetilselüloz asetat süksinatın ellajik asidin çözünürlüğü, stabilitesi ve biyoyararlılığı için en uygun polimer olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Nar kabuğu kaynaklı ellajik asidin püskürterek kurutma yöntemiyle, taşıyıcı madde olarak karaya gamı kullanılarak mikroenkapsülasyon işleminin gerçekleştirildiği ve elde edilen mikrokapsüllerin incelendiği bir çalışma da literatürde yer almaktadır (Luján-Medina vd. 2015).

Savic vd. (2019) ellajik asidin siklodekstrinlerle (SD'ler) inklüzyon komplekslerini ve bunların antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. β -SD ve HP- β -SD (2-hidroksipropil- β -siklodekstrin) kullanılarak gerçekleştirilen çalışmanın sonucunda ellajik asitin siklodekstrinlerle etkileşime girdiği doğrulanmış ve suda çözünürlüğünün siklodekstrinlerin varlığında arttığı gözlemlenmiştir. EA:HP- β -SD kompleksinin EA: β -SD kompleksinden daha yüksek stabiliteye sahip olduğu görülmüş ve inklüzyon komplekslerinin DPPH radikal yakalama aktivitesinin, serbest ellajik asit ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca hazırlanan örneklerin çalışmada kullanılan sentetik antioksidan BHT'den daha iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar, inklüzyon komplekslerinin *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus luteus* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı güçlü bir etki göstermekle birlikte, EA'dan farklı olarak, suda çözünürlüğün artmasıyla *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı aktivite gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Ding vd. (2019) yapmış oldukları çalışma ile taşıyıcı malzeme olarak kitosan ve sodyum aljinat kullanarak EA mikrokürelerinin hazırlanmasına odaklanmışlardır. Nar kabuğu kaynaklı EA kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada sürekli salınımlı mikroküreler hazırlanmış ve bu mikrokürelerin preadiposit adipojenik farklılaşması üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. Bu çalışmada kitosan/aljinat-ellajik asit içeren sürekli salınımlı mikroküreler başarıyla hazırlanabilmiş, ellajik asit mikrokürelerini hazırlamak için ellajik asidi etkili bir şekilde kapsülleyebilen kaplama materyali olarak sodyum aljinat ve kitosan kullanımının uygun olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada, ellajik asit mikrokürelerinin preadiposit proliferasyonu üzerindeki inhibisyon etkisinin, 36 saat sonra aynı konsantrasyonda ellajik asitinkinden önemli ölçüde daha güçlü olduğu ve preadipositlerin adipojenik farklılaşması üzerindeki ellajik asidin sürekli salınımlı mikrokürelerin inhibisyonu da ellajik asitten daha yüksek düzeyde etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Li vd. (2015) mikronize EA (m-EA) tozu hazırlamak için antisolvent çökeltme ve dondurarak kurutma yöntemlerini kullanmışlardır. Birçok farklı yöntemle çözünme ve çözünürlük testlerine tabi tutularak karakterize edilmişlerdir. Sonuçlar, ham EA'ya kıyasla m-EA'nın kristalliğinde güçlü bir azalma olduğunu göstermiştir ve m-EA ile elde edilen görünür çözünürlüğün, EA'ninkinden yaklaşık 6.5 kat daha yüksek olduğu ve sıçanlarda oral uygulamayı takiben biyoyararlanımın, m-EA ile yaklaşık 2 kat daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Jeong vd. (2001), ellajik asidin etki bölgesine iletilmesinin inflamatuvar bağırsak hastalığında bir antiinflamatuvar aktivite göstereceği varsayımına dayanarak farelerde alt ince bağırsağa EA mikroküreleri vermek için pH'a duyarlı bir polimer olan Eudragit P-4135F'yi kullanmışlardır. İstenilen yerde etkili bir EA salınımı elde etmişlerdir. Ayrıca, çözünme testleri, pH 7.4 ve pH 8 tamponda mikrokürelerden 30 dakika sonra %95'ten fazla EA salınımı gösterirken ham EA tozunda ise %40'tan az salınım gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bala vd. (2005) dengeleyici olarak kitosan (80:20) ile kombinasyon halinde polivinil alkol (PVA), didodesildimetilamonyum bromür (DMAB) ve PVA kullanarak poli (D,L-laktid-ko-glikolit) nanopartiküller yüklü EA üretmişlerdir. Sıçanlarda *in situ* yapılan bağırsak geçirgenliği testi, saf ilaç ve dengeleyici olarak PVA, PVA-kitosan

karışımı ve DMAB kullanılarak hazırlanan nanopartiküller içinde kapsüllenmiş ilaç için sırasıyla %66, %75, %73 ve %87 geçirgenlik göstermiştir.

Ruan vd. (2018) EA'nın oral yolla uygulaması için ortalama çapı yaklaşık 70 nm olan biyolojik olarak parçalanabilen içi boş zein nanopartikülleri geliştirmişlerdir. Nanopartikülün iç çekirdeği, doğal bir plastikleştirici olarak trietil sitrat ile içi boş zein nanoparçacıklarında kapsüllenmiş olan ve anti-solvent çöktürme ile hazırlanan EA/sodyum karbonattan ($\text{EA}/\text{Na}_2\text{CO}_3$) oluşmaktadır ve çalışmanın sonucunda sıçandaki biyoyararlanımın, saf EA ve EA'nın kapsüllenmemiş nanoparçacıklarından 3.6 ve 2.6 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Stojiljković vd. (2019) yapmış oldukları çalışmada, ellajik asidin nanolipozomlara kapsüllenmesinin, siklofosfamid kaynaklı karaciğer hasarını önleme potansiyelini geliştirip geliştirmeyeceğini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Nanolipozom ile enkapsülasyon aşamasında nanoküre formundaki %10'luk fosfolipid nanopartikül solüsyonu, 4 mg/ml'lik nihai bir konsantrasyon elde etmek üzere bir ellajik asit solüsyonu ile karıştırılmış ve bir gecelik inkübasyonun ardından, kapsüllenmiş nanoparçacıklar, (Stojiljkovic vd. 2018) çalışmalarında kullanılan metoda göre 4°C'de 30 dakika boyunca 6500xg'de santrifüjleme ile izole edilmiştir. Deneylerde kullanılan hayvanlar, 5 gün boyunca serbest ve kapsüllenmiş EA ile muamele edilmiş ve sadece üçüncü gün siklofosfamid uygulaması gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar histopatolojik gözlemler yoluyla serum karaciğer hasarı parametrelerini, oksidatif doku hasarı parametrelerini ve karaciğer hücrelerinin değişikliklerini belirlemişlerdir. Çalışmanın sonunda; EA'nın kapsüllenmesinin, bozulmasını önemli ölçüde önlediği ve *in vitro* koşullarda antioksidan özelliklerini geliştirdiği, EA'nın her iki formundaki *in vivo* deneylerde, serum karaciğer hasarı parametrelerindeki ve doku antioksidan kapasitelerindeki değişiklikler yoluyla ve ayrıca oksidatif olarak modifiye edilmiş lipitler ve proteinlere dayalı olarak tahmin edilen siklofosfamid tarafından indüklenen sıçan karaciğer hasarını önlediği bulunmuştur. Ellajik asidin *in vitro* koşullarda lipit peroksidasyonunu önleme yeteneğinin, aktif bileşik lipozomlar içinde kapsüllendiğinde, serbest formda uygulanmasına göre daha iyi olduğu da tespit edilmiştir. Sonuçlar, ellajik asitin nanolipozomal formülasyonunun kanser tedavilerinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Wang vd. (2017) EA'nın çözünürlüğünü ve emilimini ve dolayısıyla oral biyoyararlanımını artırmayı amaçlayarak kendi kendine nanoemülsifiye edici dağıtım sistemleri üretmişlerdir. PEG, polisorbata, kaprilik/kaprik triasilgliserolden oluşan optimal bir formülasyonla %45/45/10 yaklaşık 120 nm ortalama damlacık boyutuna sahip ince bir nanoemülsiyon elde etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar kendi kendine nanoemülsifiye edici dağıtım sistemlerinin *in vivo* oral biyoyararlanımını değerlendirmek için fareler üzerinde bir farmakokinetik çalışma gerçekleştirmişler ve bu çalışma ile EA'nın bu formülasyonla, sulu süspansiyonlara ve nar ekstraktına göre biyoyararlılığının sırasıyla 6.6 ve 3.2 kat daha fazla olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

2.4. Enkapsülasyon

Kapsülleme, aktif maddeleri bir taşıyıcı malzeme içinde tutmak ve böylece birkaç nanometre ile birkaç milimetre çapa sahip partiküller üretmek için uygulanan bir işlem olarak tanımlanmaktadır. Parçacık boyutuna göre, kapsülleme teknolojisine mikro kapsülleme (3 ila 800 µm arasında) veya nanokapsülleme (10 ila 1000 nm arasında) denir.

Enkapsülasyon işleminde, kaplanan madde; çekirdek, iç faz, dolgu ya da aktif madde olarak ifade edilirken; kaplamada kullanılan madde ise kabuk, kaplama, duvar materyali, membran, dış faz, taşıyıcı, matris ya da enkapsülant olarak isimlendirilmektedir (Arenas-Jal vd. 2020)

Aktif maddeler arasında, renk bileşenleri katı ve sıvı yağlar, biyoaktif maddeler, aroma bileşenleri, enzimler, probiyotik mikroorganizmalar, vitamin ve mineraller gibi bileşenler bulunmaktadır. Mikroenkapsülasyon, katı, sıvı veya gaz halde bulunan bileşenlerin çevresinin bir veya daha fazla kaplama maddesi ile sarılarak mikrometrik boyutta kapsüllerin elde edilmesinde kullanılan bir teknolojidir (Nedovic vd. 2011).

Enkapsülasyon, değişik yapılarda mikrokapsüllerin oluşumu ile gerçekleşmektedir. Bu yapı;

- Aktif maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine,
- Kaplama materyalinin kompozisyonuna ve
- Mikroenkapsülasyon tekniğine göre değişim göstermektedir.

Katıları, sıvıları veya farklı tip ve özelliklerdeki uçucu bileşenleri kaplamak veya kapsüllemek için birçok madde kullanılabilir. Kapsüllerin koruyucu kabuğunun tasarımı için kullanılan malzemeler gıdalarda kullanılabilir, biyolojik olarak parçalanabilir ve iç faz ile çevresi arasında bir kabuk oluşturabilir özellikte olmalıdır (Wandrey vd. 2010).

Her geçen gün fonksiyonel gıdalara olan yönelimin artmasıyla birlikte doğal kaynaklar kullanılarak biyoaktif maddeler elde edilmektedir. Bu biyoaktif maddelerin gıdalara katılanması ve zenginleştirilmesi mikroenkapsülasyon tekniğinin daha da önem kazanmasını sağlamıştır.

Mikroenkapsülasyon işlemi çeşitli nedenlerle uygulanabilmektedir. Aktif maddenin korunması kapsüllemenin birincil nedenidir. Mikroenkapsülasyon; işleme, depolama ve tüketim sırasında aktif bir bileşiğin stabilitesini korumayı amaçlamaktadır. Çoğu fonksiyonel bileşen, çeşitli faktörlere karşı çok hassastır ve hızlı bir inaktivasyona uğrama eğilimindedir (Zuidam ve Shimoni 2010) (Fang ve Bhandari 2010)

Çeşitli potansiyel sağlık yararları taşıyan bu maddelerin mikroenkapsülasyon işlemi ile kimyasal/biyolojik stabiliteleri artırabilmektedir. Ayrıca mikroenkapsülasyon işleminin gıda sistemlerindeki bozunma reaksiyonlarına (örn. oksidasyon veya hidroliz) ve gastrointestinal sistem koşullarına karşı nihai ürünlerin özelliklerini korumak için etkili bir yaklaşım olduğu bilinmektedir (Yanniotis vd. 2013).

Mikroenkapsülasyon tekniği ile çekirdek materyalinin dış etkenlere (ısı, nem, hava ve ışık, pH, oksidasyon) karşı korunması, stabilitelerinin artırılması, istenmeyen tat, koku ve renklerinin maskelenmesi, hidrofobik aktif madde bileşenlerinin sudaki veya diğer hidrofilik sistemlerdeki çözünürlüğünün artırılması ve biyoaktif maddelerin doğrudan hedef bölgeye iletilmesi ve olumsuz ortam koşullarından korunmasına yardımcı olarak biyoyararlılığının artırılması sağlanabilmektedir (Đorđević vd. 2015, McClements 2017).

2.4.1. Taşıyıcı materyaller

Mikroenkapsülasyon işleminde, aktif maddenin reolojik özelliklerine, aktif bileşiği dağıtma ve stabilize etme yeteneklerine, aktif bileşiğin reaksiyona girmesinin engellenmesi ve aktif bileşiği uygun şekilde tutma yeteneklerine bağlı olarak farklı kaplama materyalleri kullanılır (Choudhury vd. 2021). Bu kaplama materyalleri arasında; doğal ve modifiye nişasta, hidrolize nişastalar (dekstrin, siklodekstrin, maltodekstrin) gibi karbonhidratlar; mum, parafin, balmumu, diaçilgliseroller gibi lipidler; akasya gamı, arabik gam, ksantan gam, gibi doğal polisakkarit gamlar; ve kazein, albümin, peyniraltı suyu proteini ve jelatin gibi proteinler bulunmaktadır. Bunlara ek olarak mikrokapsülasyon için duvar materyali olarak kullanılan lifli bileşikler (inülin, pektin, β -glukan, çözünür soya fasulyesi polisakkariti), gamlar (aljinat, karagenan), selüloz türevleri (karboksimetil selüloz, metil selüloz, hidroksipropilmetil selüloz), kitosan, soya fasulyesi protein izolatu, kanola protein izolatu, gluten, zein gibi çevre dostu biyopolimerler de mevcuttur (Samborska vd. 2021).

İstenilen özelliklere sahip nihai toz ürünlerin üretimi, kapsülleme işleminin temel amacıdır. Bu nedenle, taşıyıcı malzemelerin türü/oranının, kapsüllenecek aktif bileşenin türü/oranı gibi parametreler nihai toz ürün üzerindeki kritik faktörlerdir. Mevcut tez çalışmasında maltodekstrin, arabik gam ve inülin olmak üzere üç farklı taşıyıcı materyal kullanılarak püskürtük kurutma tekniği ile ellajik asit mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir.

Maltodekstrin, gıda bileşenlerinin mikroenkapsülasyonunda yaygın bir taşıyıcı materyal olarak kullanılan, nişastanın asit veya enzimlerle kısmi hidrolizi ile üretilen hidrolize bir nişastadır (de Barros Fernandes vd. 2014). Özellikle püskürtük kurutma uygulamalarında kullanılan, en çok tercih edilen karbonhidratlardan biri olan maltodekstrin, yüksek oranda suda çözünürlük (yaklaşık %70), düşük maliyet, nötr aroma ve tat, yüksek katı konsantrasyonlarında düşük viskozite, gıda sistemlerindeki yapışma ve aglomerasyon problemlerinde önemli düzeyde azalma sağlama, biyoaktif maddelerin oksidasyon ve termal bozunmalara karşı korunmasını sağlama etkilerine sahiptir. Bununla birlikte, maltodekstrinin en büyük sınırlaması, düşük emülsifiye etme kapasitesidir. Bu nedenle genellikle diğer taşıyıcı materyaller ile birlikte kullanılmaktadır (Buffo ve Reineccius, 2000).

Inülin, buğday, çavdar, arpa, sarımsak, hindiba, soğan, karahindiba kökü, muz ve yer elması gibi farklı bitkilerde kolaylıkla bulunabilen bir polisakkarit ve birçok bitkide bulunan çözünür bir lif türüdür. Kolon mikroflorası için prebiyotik etki gösterdiği ve sindirimi sadece bağırsakta gerçekleştiği için, bu polimer insan sindirim sistemi boyunca bozunmaya duyarlı biyoaktif bileşiklerin korunması için kullanılabilir bir taşıyıcı materyaldir (Lourenço vd. 2020).

Arabik gam, yüksek çözünürlük, düşük viskozite ve yüksek yüzey aktivitesi nedeniyle en çok kullanılan polisakkaritlerden biri olup, *Acacia* türlerinin ağaçlarından elde edilmektedir. Yaklaşık %2 protein içeren bir heteropolisakarit olan arabik gam, kimyasal olarak 1,6-bağlantılı galaktopiranoz birimlerinin dalları ile 1,3-bağlanmış β -D-galaktopiranoz omurgasından oluşmaktadır. Arabik gam gıdalarda özellikle aroma sabitleyici, köpük stabilizatörü, bağlayıcı, emülgatör ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır (Burdock 2001).

Corrêa-Filho vd. (2019) yapmış oldukları çalışma ile domates posasından elde edilen likopen açısından zengin etanolik bir domates posası ekstraktını, taşıyıcı materyal olarak arabik gam ve inülin kullanarak püskürterek kurutma yöntemi ile kapsüllemeyi amaçlamışlar ve mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde taşıyıcı materyal ve püskürterek kurutma koşullarının etkilerini incelemişlerdir. Kurutma havası giriş sıcaklığının 110–200 °C ve taşıyıcı materyallerin konsantrasyonları ise arabik gam için %5–35, inülin için ise %5–25 olarak belirlemişlerdir. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde her iki taşıyıcı materyal için ağırlıkça %10'luk bir konsantrasyon ve arabik gam ve inülin için sırasıyla 200°C ve 160 °C'lik giriş sıcaklığının en uygun koşullar olduğu görülmüştür ve her iki taşıyıcı materyal de çoğunlukla likopen olmak üzere domates posası karotenoidleri ile yüklü mikropartiküllerin oluşmasını sağlamıştır.

Castel vd. (2018) arabik gam (AG) ile karşılaştırıldığında mısır yağının mikroenkapsülasyonunda Brea gamının (BG) potansiyelini değerlendirmeyi ve matris formülasyonuna inülin eklemenin etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Püskürterek kurutma yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde giriş havası ve çıkış havası sıcaklıkları sırası ile 150 ± 5 °C and 60 ± 5 °C olarak sabit tutulmuştur. Kapsülleme verimliliği, %20 BG konsantrasyonu ile artarak %76,12'ye ulaşmışken GA ile elde edilen etkinlikten (%88,66) daha yüksek olan %20 BG/%20 inülin formülasyonu ile en yüksek değere (91,72) ulaşarak inülin varlığında daha fazla verimlilik artışı sağlandığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda ikincil bir duvar malzemesi olarak inülinin varlığının enkapsülasyon etkinliği üzerinde önemli bir etki gösterdiği, %20 BG/%20 inülinin en yüksek verimi gösteren optimum formülasyon olduğu ve nispeten ucuz doğal malzemeler olan BG ve inülin karışımının hidrofobik bileşikler için iyi bir alternatif taşıyıcı ajan olarak seçilebileceği değerlendirilmiştir.

Lourenço vd. (2020) fenolik bileşikler açısından zengin olan ananas kabuğunun hidroalkolik ekstraktının püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak mikroenkapsülasyonunu gerçekleştirmek amacıyla taşıyıcı materyaller olarak maltodekstrin, inülin ve arabik gam kullanmışlar ve taşıyıcı materyal tipinin ve kurutma sıcaklığının (150 ve 190 °C) partikül özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan, 150 °C kurutma sıcaklığında, maltodekstrin ve arabik gam kullanılarak yapılan kapsülleme koşullarının, fonksiyonel özellikleri iyileştirilmiş gıda ürünlerinin geliştirilebilmesi için biyoaktif tozlar üretme potansiyelinin daha yüksek olduğunu görmüşlerdir.

Pieczkolan ve Kurek (2019) guar gam, arabik gam, pektin, β -glukan ve inülin ile yaban mersini meyvesinden elde edilen antosiyaninleri içeren mikrokapsüller oluşturmak için püskürterek kurutma tekniğinin kullanmışlardır. Yapılan araştırmalarda en yüksek nem içeriği arabik gam kapsüllerinde gözlemlenmiştir. Beta-glukan içeren kapsüllerde en farklı renk parametreleri gözlenmiştir. En büyük partiküller arabik gamda ve en küçük partiküller ise guar gamında gözlemlenmiştir. Kurutma gününde ve 7 günlük depolama sonunda antosiyanin içeriği en yüksek beta-glukan kapsülleri, en düşük içerik ise arabik gam ile hazırlanmış kapsüllerde görülmüştür. C vitamini içeriği söz konusu olduğunda ise özellikle öne çıkan örnek pektin örneği olmuştur. Çalışma ile mikrokapsülasyon işleminin antosiyaninler gibi hassas bileşiklerin ve aynı zamanda askorbik asidin stabilitesini korumak için etkili bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Shahidi Noghabi ve Molaveisi (2020) giriş havası sıcaklığı 170°C'ye ayarlanan püskürterek kurutucu ile tarçının esansiyel yağının mikrokapsüllerinin üretebilmek için için taşıyıcı materyallerin oranını optimize etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada taşıyıcı materyaller olarak arabik gam (GA), maltodekstrin (MD) ve inülin (İN) kullanılmıştır. Yüzey sinnamaldehit içeriği, sinnamaldehitin kapsülleme etkinliği, sinnamaldehit salınımı ve tozun geri kazanımını içeren dört parametre yanıt olarak değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları optimum bileşik konsantrasyonunun %27.87 GA, %27.59 MD ve %44.53 İN olacağını göstermiştir. Ayrıca mikroenkapsülasyon işlemi ile; optimum mikrokapsüllerin, 30 günlük depolama süresince saf yağa kıyasla antioksidan aktivitenin stabilitesini artırdığı incelenmiştir.

Maleki vd. (2020) yapmış oldukları çalışma ile *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 mikroenkapsülasyonu için dondurarak kurutma yöntemini ve taşıyıcı materyal olarak ise peyniraltı suyu proteini izolatu, kristal nanoselüloz ve inülin kullanarak probiyotik bakterilerin gastrointestinal koşullarda hayatta kalmasını artırabilecek en uygun formülasyonu belirlemeyi amaçlamışlardır. Gerekli optimizasyon çalışmalarının ardından %89.60 enkapsülasyon etkinliği ile en uygun taşıyıcı materyal formülasyonu peyniraltı suyu proteini izolatu: %57.22, kristal nanoselüloz: %25.00, inülin: %17.78 olarak bulunmuştur.

Righi Da Rosa vd. (2021) yapmış oldukları çalışma ile standart formülasyon (S) olarak maltodekstrin ve dirençli mısır nişastasını taşıyıcı materyal olarak kullanmış ve püskürterek kurutma yöntemiyle üretilen yabamersini ekstraktı mikrokapsüllerinin antosiyanin stabilitesini ve oluşum özelliklerini değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda inülin (T1), arabik gam (T2) ve inülin ve arabik gamın (T3) kullanıldığı farklı formülasyonlar oluşturulmuş ve bunların mikrokapsüller üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 60 gün süre ve farklı sıcaklıklarda depolama yapılmış olup bunun antosiyanin açısından zengin ekstrakt mikrokapsüllerinin stabilitesi incelenmiştir. Yapılan çalışmada mikrokapsüller, %96.80 ila 98.83 arasında değişen kapsülleme verimliliği göstermiş ve tüm işlemler arasında T3 formülasyonunun, tüm saklama koşullarında en düşük antosiyanin kaybını ve en uzun yarılanma ömrü gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

De Liz vd. (2020) blok dondurma yoluyla konsantre edilen keçi peyniraltı suyunun ve duvar malzemeleri olarak inülinin püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak *Bifidobacterium animalis lactis* ssp. BB-12'nin stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Püskürterek kurutulmuş tozların özellikleri, üretildikleri gündeki fiziksel ve termal özelliklerine göre karakterize edilmiştir. Çalışmanın sonunda mikrokapsüle bifidobakteriler içeren püskürterek kurutulmuş tozların peyniraltı suyu konsantresi ve inülin ile mikrokapsüllerin termal stabilitesini arttığı ve peyniraltı suyu konsantresinin, bifidobakteriler için etkili bir taşıyıcı materyal olduğu görülmüştür.

Hashemiravan vd. (2013) çekirdek malzeme olarak yaban mersini esansiyel yağını taşıyıcı materyal olarak inülin ve β -siklodekstrini 1:5 (çekirdek:taşıyıcı) oranında kullanarak mikrokapsülasyon işlemi uygulamışlardır. Su içinde yağ nano-emülsiyonları, ultrasonik sıvı işlemciler tarafından hazırlanmış ve daha sonra 120°C giriş havası sıcaklığı ve 65°C çıkış havası sıcaklığı kullanılarak püskürterek kurutucuda enkapsüle toza dönüştürülmüştür. Sonuçlar, en iyi kapsülleme etkinliğinin ve daha az yüzey yaban

mersini içeriği ile duvar malzemesi olarak inülinin kullanımının daha uygun olduğunu göstermiştir.

2.4.2. Mikroenkapsülasyon teknikleri

Gıda bileşenlerinin enkapsülasyonu birçok yöntemle gerçekleştirilebilir. Mikroenkapsülasyon yönteminin seçimi kullanılacak aktif maddeye ve kaplama materyallerinin özelliklerine ve gıda bileşenlerinin kullanım amaçlarına göre belirlenir. Bu yöntemler arasında püskürterek kurutma, püskürterek soğutma, liyofilizasyon, akışkan yataklı kaplama, koaservasyon, kokristalizasyon, lipozom, ekstrüzyon, santrifüj ekstrüzyonu, siklodekstrin inklüzyonu, emülsifikasyon gibi farklı teknikler mevcuttur (Nedovic vd. 2011)

Farklı enkapsülasyon tekniklerinin prensipleri, aktif maddenin yapısı ve bu enkapsülasyon tekniklerinin başlıca işlem basamakları çizelge 2.3’de verilmiştir (Desai ve Jin Park 2005, Choudhury vd. 2021)

Çizelge 2.3. Farklı enkapsülasyon tekniklerinin prensipleri, aktif maddenin yapısı ve bu enkapsülasyon tekniklerinin başlıca işlem basamakları

Enkapsülasyon Yöntemi	Prensibi	Enkapsülasyon Basamakları	Aktif Maddenin Yapısı
Püskürterek Kurutma	Emülsiyon veya dispersiyon oluşumu ve karışımın kurutma haznesine atomizasyonu	- Karışımın hazırlanması ve homojenizasyonu - Kapsüllerin püskürterek kurutulması	Katı/Sıvı
Püskürterek Soğutma	Çekirdeğin sıvılaştırılmış bir kaplama materyaline dağıtılması ve ısıtılmış bir nozuldan kontrollü bir şekilde soğuk bir ortama püskürtülmesi	- Dispersiyonun hazırlanması - Dispersiyonun homojenleştirilmesi - Besleme dispersiyonunun atomizasyonu	Katı/Sıvı
Akışkan Yatak Kaplama	Çekirdek malzemenin katı veya toz halindeki parçacıkları, açık bir hava akımında süspanse edilmesi ve erimiş polimer ile kaplanması	- Kaplama materyali çözeltisinin hazırlanması - Aktif madde partiküllerinin akışkanlaştırılması - Aktif madde partiküllerinin kaplanması	Katı

Devamı arkada

Çizelge 2.3'ün devamı

Enkapsülasyon Yöntemi	Prensibi	Enkapsülasyon Basamakları	Aktif Maddenin Yapısı
Koaservasyon	Aktif bileşenlerin solüsyondan ayrılarak uniform bir tabaka halinde kaplanması	• Çözgenlerin hazırlanması • Kapsülün oluşturulması • Çözgenin uzaklaştırılarak kapsülün katılaştırılması	Katı/Sıvı
Ekstrüzyon	Çekirdek ve duvar malzemesinin bir emülsiyonunun yüksek basınçlı bir kalıptan geçirilmesini içerir. Karışım, soğuk bir çözücü banyosunda topraklar halinde ekstrüde edilmesi	• Erimiş kaplama materyali çözeltisinin hazırlanması • Aktif maddenin kaplama solüsyonu içine hapsedilmesi • Kapsülün soğutulması veya kurutulması	Katı/Sıvı
Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)	Dondurulmuş formdaki kapsülün bileşimindeki çözücü fazın düşük basınç ve sıcaklıkta süblimasyon ile uzaklaştırılması	• Bir kaplama materyali çözeltisinde aktif maddenin karıştırılması • Karışımın dondurularak kurutulması	Katı/Sıvı
Siklodekstrin inklüzyonu	Siklodekstrin yüzeyi ve aktif bileşimler arasındaki hidrofobik etkileşimlerle kompleks oluşturulması	• Karıştırma, öğütme veya püskürtme yoluyla komplekslerin hazırlanması	Katı/Sıvı

2.4.3. Püskürterek kurutma

Püskürterek kurutmanın hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçeklerde yaygın olarak bulunan bir yöntem olarak kullanımı, sürekliliği, basitliği, tekrarlanabilirliği, suyun hızlı bir şekilde buharlaşması, yüksek hızı, büyük değişiklikler olmaksızın kolay ölçeklendirmesi ve düşük üretim maliyetleri nedeniyle uzun bir geçmişe sahiptir. Püskürterek kurutma tekniğinin faydaları arasında, belirli bir parçacık boyutuna ve nem içeriğine sahip tozlar üretme yeteneği, hızlı yanıt süresi ile tam otomatik olarak kontrol edilen ve hem ısıya duyarlı hem de ısıya dayanıklı malzemelere uygulanabilen sürekli ve kolay bir işlem olması yer alır (Murugesan ve Orsat 2012, Samborska vd. 2021).

Püskürterek kurutma, besleme çözeltisini sıcak bir kurutma ortamına püskürterek sıvı halden kurutulmuş partikül formuna dönüştüren bir işlemdir. Püskürterek kurutucuya beslenen ilk sıvı bir çözelti, emülsiyon veya süspansiyon olabilir. Püskürterek kurutma

yöntemi ile başlangıç besleme materyali ve çalışma koşullarına bağlı olarak çok ince bir toz (10–50 µm) veya büyük boyutlu parçacıklar (2–3 mm) üretilebilir. Kurutulmuş ürünün özellikleri, beslenen ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine, kurutucu tasarımına ve çalışmasına bağlıdır (Keshani vd. 2015).

Püskürterek kurutma yöntemiyle enkapsülasyon işleminin temel işlem basamakları sırasıyla kapsüllenecek ürününün belirlenen taşıyıcı materyallerle ile hazırlanan emülsiyon/dispersiyonlarının homojen hale getirilmesi, elde edilen emülsiyon/dispersiyonların atomizasyonu ve elde edilen atomize parçacıkların dehidrasyonu şeklindedir (Shahidi ve Han 1993).

2.4.3.1. Püskürterek kurutma yöntemi ile yapılan enkapsülasyon çalışmaları

Yapılan literatür taramalarında birçok biyoaktif maddenin püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edildiği görülmüş ve bu konuda yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Ersöz (2019) tarafından gerçekleştirilen tez çalışmasında sıvı ve mikroenkapsüle nar kabuğu ekstraktlarının inek sütü ve soya içeceği karışımlarından üretilen yoğurtlarda kullanılabilirliği araştırılmıştır. Nar kabuğu ekstraktları püskürterek kurutma tekniği ile giriş havası sıcaklığı 165°C ve 1:4 ekstrakt:maltodekstrin oranında ve %30 katı besleme oranıyla enkapsüle edilmiştir. Yapılan çalışma soya içeceği katkılı yoğurtların üretiminde sıvı ve mikroenkapsüle nar kabuğu ekstraktlarının fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Kaderides vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada ise nar kabuğu ekstraktı ve portakal suyu endüstrisi yan ürünlerini taşıyıcı materyal olarak kullanıp püskürterek kurutma metodu ile enkapsüle etmiş ve elde edilen enkapsüle fenolik maddeler ve ham ekstrakt kullanarak kurabiye yapımında kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda portakal suyu endüstrisi yan ürünleri ile nar kabuğu polifenollerinin kapsüllemesi ve kurabiyelere dahil edilmesi işlemi, kapsüllemenin sağladığı antioksidan içeriği ve depolama stabilitesi nedeniyle fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi için olumlu etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Çam vd. (2014) giriş hava sıcaklığı 160°C ve fenolik madde/maltodekstrin oranı 1/1 veya 1/3 olacak şekilde püskürterek kurutma tekniğiyle enkapsüle edilmiş nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş dondurmaların, kontrol örneklerine kıyasla önemli ölçüde geliştirilmiş fonksiyonel özelliklere sahip olduğunu ve nar fenoliklerinin dahil edilmesinin dondurmanın in vitro biyoaktivitesini iyileştirdiğini gözlemlemişlerdir.

Kaderides vd. (2015), nar kabuğunda bulunan fenolik maddelerin ultrases destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirdikten sonra püskürterek kurutma metodu ile taşıyıcı materyal olarak farklı oranlarda maltodekstrin, yağsız süt tozu, Arabik gam ve peyniraltı suyu protein izolatu kullanarak enkapsüle etmiş ve farklı parametrelerin verim ve mikrokapsüllerin üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda maksimum kapsülleme verimliliği %99.80, optimum çalışma koşulları ise, taşıyıcı materyal olarak maltodekstrin/peyniraltı suyu proteini izolatu (50:50); giriş havası sıcaklığı, 150 °C; kurutma havası akış hızı, 17,5 m³/sa; taşıyıcı materyal:ekstrakt oranı, 9/1 olarak

bulunmuştur. Enkapsüle edilmiş bu nar kabuğu ekstraktının fındık ezmesinin raf ömrünün uzatılmasında etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Goula ve Lazarides (2015), nar atıkları olan nar çekirdeği ve nar kabuğunda bulunan fenolik maddelerin geri kazanımını sağlamak amacıyla ultrases destekli ekstraksiyon işlemi uygulamış ve püskürterek kurutma işlemi ile enkapsüle etmişlerdir. Bu amaçla farklı kapsülleme malzemeleri olarak taşıyıcı olarak maltodekstrin (12 DE)/Tween 80 (99/1), yağsız süt tozu, maltodekstrin/ yağsız süt tozu, (50/50), maltodekstrin/peyniraltı suyu protein izolatu (95% peyniraltı suyu protein) (50/50), maltodekstrin/arap zımkı (50/50) oranlarında olacak şekilde kullanmışlardır. Nar çekirdeği yağı enkapsülasyonu için optimum kapsülleme materyalleri, çekirdek/kapsülleme materyali oranı ve giriş sıcaklığı sırasıyla Maltodekstrin/Tween 80, 1/3.7 ve 150 (°C) iken nar kabuğu fenolikleri enkapsülasyonu için optimum veriler sırası ile Maltodekstrin/peyniraltı suyu protein izolatu 1/9.0, 150 °C olarak bulunmuştur.

Edris vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada çörek otu oleoresini, arabik gam/maltodekstrin (1:1 w/w) kullanılarak, giriş ve çıkış sıcaklıkları sırasıyla 160 °C ve 80°C (±1°C) olacak şekilde püskürterek kurutma yöntemi ile enkapsüle edilmiş ve elde edilen toz mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. İşlem sonucunda oleoresinin kapsülleme verimliliğinin %84.2 ile %96.2 arasında değiştiği görülmüş ve oleoresin tozunun, farklı gıda ve nutrasötik uygulamaların güçlendirilmesinde kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır.

Zeytin yaprağı ekstraktının sodyum aljinat kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile mikrokapsülasyon işleminin gerçekleştirildiği bir çalışmada giriş havası sıcaklığı (135–195 °C) ve Zeytin yaprağı ekstraktı: sodyum aljinat oranı (1:0.35–1:2.15) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, kapsülleme verimliliği bağımlı değişken olarak değerlendirilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktı: sodyum aljinat oranı 1:1.6 ve giriş hava sıcaklığı 135 °C, mikropartikülleri için en uygun koşullar olarak bulunup, zeytin yaprağı ekstraktının kapsüllemesinin, oleuropeinin gastrik sindirim sırasında degradasyonunu engelleyip kontrollü salınımını sağlayarak oleuropeinin daha yüksek biyoerişilebilirliğine ve potansiyel biyoyararlanımına ulaşmasını sağladığı ve Oleuropein ve hidroksitirosoün, kolonik sindirimden sonra hem kapsüllü hem de kapsülsüz zeytin yaprağı ekstraktında tespit edilmesine rağmen, kapsüllemiş ekstraktta önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır (González vd. 2019).

Endo vd. (2012) çalışmalarında püskürterek kurutma tekniği enkapsüle edilen nar kabuğu ekstraktı mikrokapsüllerinin *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivitesini değerlendirmişler ve nar kabuğu ekstraktının enkapsülasyon işlemi için taşıyıcı materyaller olarak aljinat ve kitosan kullanmışlardır. Kitosan ve aljinat için sırasıyla %41 ve %40 civarında üretim verimi elde etmişlerdir. Ayrıca mikropartiküllerin boyutu 2.80 ve 2.45 µm olarak elde edilmiş ve buna göre kitosan ve aljinat için sırasıyla %74.7 ve %81.9 enkapsülasyon yeterliliği elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile mikropartiküllerin daha yavaş bir salınım gerçekleştirdiği ve *Candida albicans*'ın antifungal aktivitesine karşı daha iyi inhibisyon sağladığı sonucuna ulaşılmıştır.

Yekdane ve Goli (2019) tarafından gerçekleştirilen, arabik gam ve ksantan gam ile üretilmiş ve nar suyu ile zenginleştirilmiş nar çekirdeği yağı mikrokapsüllerinin özelliklerini ve oksidatif stabilitesini değerlendirmek amaçlanmıştır. Ön testlerle

emülsiyon formülasyonunu optimize etmek için sabit miktarda arap zımkı (%15) ile ksantan gam (0, 0.075, 0.15, %0.3) ve nar çekirdeği yağı (duvar malzemesi ağırlığının %15, 20, %30'u) farklı oranları uygulanmış ve nar çekirdeği yağının yüksek kapsülleme verimliliğine ve yükleme kapasitesine dayanan sonuçlar, %0.075 ksantan zımkı, %15 nar çekirdeği yağı ve %15 arabik gam formülasyonunun en iyisi olduğunu bulmuşlardır. Çözeltiye su yerine farklı oranlarda (%0, %25, %50, %75 ve %100) 11 Brix nar suyu ilave edilmiştir. Püskürterek kurutucu giriş hava sıcaklığı 170 ± 5 °C ve çıkış hava sıcaklığı ise 85 ± 5 °C olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, mikroenkapsülasyon işlemi için duvar materyalleri kompozisyonunda nar suyu kullanımının mikroenkapsülasyon verimini arttırdığını, nar suyu ile kapsüllemenin, nar çekirdeği yağının oksidatif stabilitesini iyileştirmede başarılı olduğunu ortaya koymuştur.

Peyniraltı suyu protein izolatı kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyon işleminin gerçekleştirildiği bir çalışmada; kurkuminin çözünürlüğünün arttırılmasına bağlı olarak biyoyararlılığında da artış gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çözeltiler mikroakışkan jet püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuştur. Hazırlanan çözeltide, kurkumin peyniraltı suyu proteini izolatı ile hidrofobik etkileşimler yoluyla çözünür kompleksler oluşturmuş ve çözünürlüğü, peyniraltı suyu konsantrasyonları ile doğrusal olarak artmıştır. Peyniraltı suyu proteinin kurkumini sulu bir çözeltide çözme yeteneği, farklı konsantrasyonlarda peyniraltı suyu proteini (%1-10 wt) ile kurkuminle doymuş solüsyonlardaki kurkumin konsantrasyonları ölçülerek değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile peyniraltı suyu proteini-kurkumin mikropartiküllerinin püskürterek kurutucu ile kurutulmasından önce, kompleksleştirme yoluyla kurkumin çözünürlüğünün arttırılmasında etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Liu vd. 2016).

şavikin vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada taşıyıcı materyal olarak maltodekstrin ve peyniraltı suyu proteini, farklı konsantrasyonlarda (80, 100, and 120%) kullanılarak püskürterek kurutma ile nar kabuğu ekstraktlarının enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Farklı taşıyıcı türü ve konsantrasyon seşimlerinin nihai toz kapsüller üzerindeki kalite ve stabiliteye olan etkisi incelenmiştir. Nihai kapsüllenmiş tozun özelliklerinin, taşıyıcı malzemenin hem türünden hem de konsantrasyonundan etkilendiği gözlemlenmiş olup, nar kabuğu mikrokapsülleri üzerinde gerçekleştirilen analizler sonucunda en yüksek enkapsülasyon verimliliğinin (%88.63), higroskopisite (%15.17) ve suda çözünürlük indeksinin (%87.04) maltodekstrin (%100) kullanılarak elde edildiği görölmüştür. Maltodekstrin kullanılarak yapılan mikroenkapsülasyon işleminin, peyniraltı suyu proteinli olanlardan daha yüksek bir punikalın, punikalajin, gallik ve ellajik asit içeriğine sahip olduğu görölmüştür. Dolayısıyla maltodekstrinin nar kabuğu biyoaktif bileşikleri için peyniraltı suyu proteininden daha uygun bir taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir.

Baranauskaite vd. (2019) yapmış oldukları çalışma ile yüksek ürün verimi ve kekik bitkisinin ana aktif bileşikleri olan rosmarinik asit ve karvakrolün kapsülleme etkinliği ve daha küçük parçacık boyut dağılımı elde etmek için püskürterek kurutma yoluyla Türk kekik ekstraktının mikroenkapsülasyonunu optimize etmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla ana kaplama malzemesi olarak jelatin, arabik gamı, Tween 20 ve β -siklodekstrin ile takviye edilerek kullanılmış ve hazırlanan mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri, mikroskobik morfolojileri ve in vitro salınımları karakterize edilmiştir. Çalışmada kullanılan taşıyıcı materyaller kapsülleme etkinliğini arttırmakla

birlikte kekik ekstraktının her iki ana aktif bileşeni olan rosmarinik asidin ve karvakrolun in vitro salımını da artırmış ve mikroenkapsülasyon sonucu ürün veriminin %85,63 olduğu bulunmuştur.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışma kapsamında biyoyararlılığı arttırılmış ellajik asit mikrokapsülleri üretebilmek için % 40 saflıkta toz formdaki ticari ellajik asit kullanılmış ve bu materyal Autumn Herb Biotech Co., Ltd.'den (Xi'an, Çin) temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada olan *Bifidobacterium pseudocatenulatum* bakterisinin DSM No: 20438 olan suşu DSMZ'den (Almanya Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürü Koleksiyonu) satın alınmıştır. Pepsin ve pankreatin Sigma Aldrich Co. (St. Louis, ABD) firmasından, ellajik asidin mikrobiyal fermantasyonunda oluşturulan besi ortamı için kullanılan L-sistein hidroklorit, resazurin sodyum tuzu ve HPLC analizlerinde standart olarak kullanılan ürolitin A ve ürolitin B BLD Pharmatech Ltd.'den (Shanghai, China), Bacto soytone agar ve et ekstraktı Condalab (Madrid, İspanya) ve maya ekstraktı Huankai Microbial Sci. & Tech. Co.,Ltd. (Guangdong, Çin) firmasından temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich (Darmstadt, Almanya), Merck (Darmstadt, Almanya) ve Carloerba (Val-de-Reuil, Fransa), Tekkim Kimya Sanayi Limited Şirketi (Bursa, Türkiye) firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Sıvı dispersiyonun hazırlanması ve homojenleştirilmesi

Çalışma kapsamında sudaki çözünürlüğü çok düşük olan hidrofobik bir fenolik madde olan ellajik asitin suda çözünürlüğünü ve biyoyararlılığını arttırmak için püskürterek kurutma yöntemi ile mikrokapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla püskürterek kurutma işlemi öncesinde dispersiyonlar oluşturulmuştur. Dispersiyon oluşturma işleminde, Goula ve Lazarides (2015) tarafından uygulanan metodun modifiye edilmesi ile taşıyıcı materyal konsantrasyonu (maltodekstrin, inülin, arabik gam) %30 olacak şekilde belirlenmiş olup bu karışıma taşıyıcı maddenin %20'si kadar ellajik asit ilave edilmiştir. Dispersiyon oluşturma işlemi; oda sıcaklığında 15.000 d/dk 'de ve 10 dakika süreyle Ultraturrax (T25IKA Labortechn) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Püskürterek kurutma ile dispersiyonların mikrokapsülasyonu ve optimizasyonu

Püskürterek kurutmada kullanılan uygun taşıyıcı materyal / nar kabuğu kaynaklı toz ellajik asit oranı literatür araştırması doğrultusunda 30 g kurumadde/100 mL su oranında belirlenmiştir (Goula ve Lazarides 2015). Püskürterek kurutma şartları belirlenirken bağımlı değişkenler olarak ellajik asit mikrokapsüllerinin yüzde suda çözünürlüğü ve ellajik asit konsantrasyonu test edilmiş ve her iki parametrenin de en yüksek düzeyde olması gözetilerek işlem koşullarının optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla kurutma şartları kurutma giriş sıcaklığı ve taşıyıcı bileşimi (maltodekstrin, arabik gam ve inülin) bağımsız değişkenler seçilerek Optimizasyon işlemi Design Expert 10 (Stat-Ease Co., Mineapolis, ABD) paket programı ile yanıt yüzey metodu kullanılarak karışım deneme desenine (Combined Optimal Mixture Design) göre

gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1). Tüm denemeler için püskürterek kurutma işlemi laboratuvar tipi püskürterek kurutma cihazında (BUCHI, B290, İsviçre) gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı materyallerin oranı ve alt ve üst limitleri literatür doğrultusunda belirlenmiş olup bu limitler maltodekstrin için %0-30, arabik gam ve inülin için ise %0-10 olacak şekilde seçilmiştir. Ayrıca ellajik asidin hidrofobik bir yapıya sahip olmasının enkapsülasyon etkinliği üzerindeki olumsuz etkisini azaltmak amacıyla yapılan ön denemelerde dispersiyonlara farklı oranlarda (%0.5, 1, 1.5 ve 2) β -siklodekstrin (β -SD) ilave edilmiş ve üretilen mikrokapsüllere enkapsülasyon etkinliği analizi yapılmıştır. En yüksek enkapsülasyon etkinliğinin %1.5 oranında β -siklodekstrin kullanımıyla elde edildiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda deneme deseninde yapılan her bir deneme için %1.5 oranında β -SD kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Püskürterek kurutucu kullanılarak mikrokapsül üretimi

Çizelge 3.1. Karışım desenine göre belirlenen taşıyıcı madde karışım oranları ve giriş sıcaklıkları

Deneme Sırası	MD(%)	AG(%)	İN(%)	Giriş Sıcaklığı(°C)
1	24.75	5.25	0	145
2	30.00	0	0	190
3	26.21	3.79	0	175
4	12.79	7.21	10	190
5	19.32	0.68	10	175
6	19.5	10	0.5	130
7	17.32	2.68	10	130
8	21.08	4.42	4.50	190
9	10.9	10	9.1	130
10	19.40	5.88	4.72	130
11	29.65	0.35	0	160
12	21.74	8.26	0	190
13	19.40	5.88	4.72	130

Çizelge 3.1'in devamı

Deneme Sırası	MD(%)	AG(%)	İN(%)	Giriş Sıcaklığı(°C)
14	21.05	4.85	4.10	160
15	20.80	9.2	0	160
16	20	0	10	145
17	21.61	0	8.39	190
18	14.1	10	5.90	190
19	14.74	5.26	10	160
20	22.5	0	7.5	160
21	21.05	4.85	4.1	160
22	28.61	1.39	0	130
23	12.5	10	7.5	160
24	24.49	0	5.51	130
25	14.74	5.26	10	160
26	21.05	4.85	4.10	160
27	21.08	4.42	4.50	190
28	17.20	10	2.80	175

MD: Maltodekstrin, AG: Arabik gam, İN: İnülin

3.2.3. Model mide ve bağırsak sisteminde (*in vitro*) salınım testi:

Yapay mide ve bağırsak sıvıları Samtlebe vd. (2016) tarafından uygulanan yöntemle hazırlanmıştır. Buna göre yapay mide ortamı için % 0.2 oranında NaCl ve 80 mM HCl içeren çözelti içerisine 3.2 mg/mL olacak şekilde pepsin enzimi ilave edilmiş ve çözeltinin pH değeri 0.5 M NaOH ile 2.0'ye ayarlanmıştır. Mikrokapsül örneklerinden 1 g tartılarak daha önceden 37°C'ye ısıtılmış 9 mL yapay mide sıvısına ilave edilmiş ve 2 saat boyunca 100 d/dk. hızda çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmış ve bu sayede mide sistemi simüle edilmiştir. İşlem sonunda inkübasyona bırakılan örneklerin pH değeri 0.1 N NaOH çözeltisi ile 6,8'e ayarlanmış ve üzerine 10 mg/mL pankreatin içerecek şekilde enzim ilave edilerek 37°C sıcaklıkta 2 saat boyunca 100 d/dk. hızda çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 10.000 d/dk.'da 10 dk. santrifüj edilerek üst fazdaki ellajik asit miktarı belirlenmiş ve bu miktar üzerinden hazırlanan ellajik asit mikrokapsüllerinin yapay mide ve bağırsak ortamındaki çözünürlük oranı yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.2.4. Ellajik asitin mikrobiyal fermantasyonu

Tez çalışmasında ellajik asitin mikrobiyal fermantasyon yoluyla ürolitinlere (A ve B) metabolize edilmesi amacıyla seçilen *B. pseudocatenulatum* suşunun bu dönüşümünü ne derecede sağladığının tespiti amacıyla fermantasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak *B. pseudocatenulatum* suşu temin edildikten sonra gerekli ortam koşulları hazırlanmış ve bakteri sayımı yapılmıştır. Sonrasında bakteriler ve ellajik asitle hazırlanan besi ortamına konularak ellajik asitin ürolitin A ve ürolitin B'ye dönüşümü izlenmiştir (Gaya vd. 2018).

B. pseudocatenulatum DSM 20438 (DSMZ, Alman Kültür Koleksiyonu GmHg), steril koşullar altında 1'er mL Bifidobacterium sıvı besiyeri (BSY; maya ekstraktı, et

ekstraktı, kazein pepton, Bacto Soytone, glukoz, Dipotasyum Fosfat (K_2HPO_4), Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \times 7 H_2O$), manganaz sülfat ($MnSO_4 \times H_2O$), Tween 80, NaCl, Sistein-HCl $\times H_2O$, tuz çözeltisi, resazurin, distile su) sıvı besiyeri eklenip karıştırıldıktan sonra 250 mL BSY inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde karışım, santrifüj (6000 rpm, 5°C, 5 dk.) edilmiştir. Santrifüj sonrası santrifüj tüplerinde üste kalan sıvı kısım döküldükten sonra çöken kısımların üzerine 5 mL BSY-Gliserin karışımı (0.8 g BSY + 30 mL gliserin + 70 mL saf su) ilave edilerek eppendorf tüplerine (1.5 mL'lik) 1 mL olacak şekilde konulmuş ve ellajik asitin mikrobiyal fermentasyonunda kullanılmak üzere -80°C'de depolanmıştır.

Hazırlanan stok kültürün aktif hale gelmesi için eppendorf tüplerinden BSY'ye %0.1 olacak şekilde *B. pseudocatenulatum* inoküle edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. *B. pseudocatenulatum* suşu, 100 mg/L ellajik asit içeren 10 ml BSY'ye (0,5 g/L, L-sistein (Merck KGaA), pH 6.8) farklı miktarlarda (5, 6, 7 log) olacak şekilde aşılanmıştır. İnoküle edilmiş besiyerleri, anaerobik koşullar altında 37 °C'de 2 gün süreyle anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. 100 mg/L ellajik asit içeren ancak bakteri içermeyen BSY, kontrol olarak kullanılmak üzere aynı koşullarda inkübe edilmiştir. Besiyerlerine koyulan ellajik asitin süreye (0, 6, 12, 18, 24, 48 saat) bağlı ürolitinlere dönüşümü belirlenmiştir.



Şekil 3.2. *Bifidobacterium pseudocatenulatum* DSM 20438 için hazırlanmış besiyerleri (Medium 58)

3.2.5. Ellajik asit mikrokapsüllerinin depolanması

Çalışma kapsamında püskürterek kurutucu ile optimum koşullarda üretilen ellajik asit mikrokapsülleri 25°C sıcaklıktaki etüvde ve 4°C sıcaklıktaki buzdolabında depolanmıştır. Depolanan mikrokapsüller 0., 15., 30., 45. günlerde nem miktarı ve su aktivitesi, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk, çözünürlük, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite (DPPH) ve ellajik asit konsantrasyonu analizleri yapılmıştır.

3.3. Mikrokapsüllere Uygulanacak Analizler

3.3.1. Nem oranı:

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin nem miktarı gravimetrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla elde edilen toz ürünler yaklaşık 0.5 g olacak tartılarak önceden darası alınmış petri kutularına tartılarak etüvde 70°C sıcaklıkta sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. İlk ve son tartımlar üzerinden yüzde nem oranı hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2013).

3.3.2. Su aktivitesi:

Toz mikrokapsüllerin su aktivitesi (a_w) değeri, su aktivitesi tayin cihazı (AquaLab, 4TE, ABD) ile oda sıcaklığında ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) ölçülmüştür.

3.3.3. Püskürterek kurutma için mikroenkapsülasyon verimi

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen toz mikrokapsüllerin verim değerleri, elde edilen ürün (kuru bazda) miktarının püskürterek kurutucuya beslenen karışımdaki kuru madde miktarına oranlanmasıyla yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.3.4. Renk

Optimum koşullarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin renk analizi Konica-Minolta CR-400 renk ölçer cihazı kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler öncesinde cihaz önce siyah ve sonra beyaz kalibrasyon plakaları ile kalibre edilmiştir. Renk değerleri L (koyuluk-açıklık), a (yeşilik-kırmızılık), b (mavilik-sarıklık) CIE L, a, b renk parametreleri cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.5. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk:

Toz ellajik mikrokapsüllerinin yığın yoğunluğunu belirlemek için 2 g olarak tartılan toz numune 10 mL'lik mezür içerisinde hava boşluğu kalmayacak şekilde, basınç uygulamaksızın doldurulup hacmi belirlendikten sonra kütle/hacim oranından hesaplanmıştır (Bhandari vd. 1992; Koç 2015). Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ise 2 g toz örneğin tartıldığı mezürün yaklaşık 10 cm yükseklikten 30 defa sert bir zemine vurulup sıkıştırıldıktan sonraki hacim okunarak yine kütle/hacim oranından hesaplanmıştır (Beristan vd. 2001).

3.3.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı:

Mikrokapsüllerin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla elde edilen ekstraktlar 1000 kat seyreltilmiş ve bu seyreltilmiş örneklerden 0,5 mL alınarak üzerine sırasıyla 2.5 mL Folin Cioceltau çözeltisi ve 2 mL Na_2CO_3 çözeltisi (%7.5) ilave edilmiştir. Daha sonra vortexte karıştırılarak 50°C su banyosunda 5 dk. bekletilerek reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır. Reaksiyon sonunda örneklerin absorbansı 760 nm dalga boyunda örnek yerine ekstraksiyon çözeltisi kullanılarak hazırlanan köre karşı belirlenmiş ve toplam fenolik madde miktarı gallik asit (GAE)/100 g kuru örnek ağırlığı cinsinden ifade edilmiştir (Skerget vd 2005).

3.3.7. DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) Radikali İndirgeme Yöntemiyle Antioksidan Aktivite Tayini

Toz mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi DPPH radikalının (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) inhibisyonu yöntemi ile analiz edilmiştir (Fernández-León vd. 2013). Bu amaçla uygun oranda seyreltilen 50 µL ekstrakt ve 950 µL taze hazırlanmış 60 µM DPPH çözeltisi ilave edilerek karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. DPPH çözeltisinin absorbans değeri bekleme süresinin başında metanole karşı 516 nm dalga boyunda okutulmuş ve kaydedilmiştir. 30 dakikalık inkübasyon sonrası örneklerin absorbans ölçümü yapılmış ve DPPH çözeltisine göre absorbans farkları hesaplanmıştır. Örneklerin antioksidan aktivitesi bu absorbans farkları kullanılarak, g troloks eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAA)/100g kurumade cinsinden troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Radikal İndirgeme Aktivitesi (\%)} = [\text{Abs}_{\text{kontrol}} - (\text{Abs}_{\text{örnek}} / \text{Abs}_{\text{kontrol}})] * 100$$

3.3.8. Partikül boyut analizi

Toz örneklerin parçacık boyut analizleri lazer difraksiyon prensibi ile çalışan parçacık boyut analiz cihazı (Malvern, Mastersizer 2000SR, İngiltere) ve bu cihaza bağlanan sıvı modülü (Malvern Hydro 2000S, İngiltere) kullanılarak Fuchs vd (2006)'a göre yapılmıştır. Sonuçlar cihazın yazılımı (Malvern Application Ver. 5.60) yardımıyla hacim ağırlıklı ortalama (HAO), yüzey ağırlıklı ortalama (YAO), D₁₀, D₅₀ ve D₉₀ çap değeri (µm) olarak hesaplanmıştır.

3.3.9. Çözünürlük

Püskürterek kurutma ile elde edilen toz mikrokapsüllerinin suda çözünürlük analizi Cano-Chauca vd. (2005)'nin uyguladığı yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 0.50±0.001g toz örnek tartılarak üzerine 50 mL su ilave edilmiş ve 5 dakika 600 d/dk'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Süre sonunda elde edilen çözelti tüplere aktararak oda sıcaklığında 3000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası üstte kalan sıvı kısımdan alınan örnekler önceden darası alınmış cam tüplere aktarılmış ve 70°C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kuruyan örnekler 1:5 oranında su ile seyreltilerek ellajik asit konsantrasyonu mg/g toz ürün olarak 3.3.9 başlığı altında detayları verilen HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Çözünürlük, belirlenen ellajik asit konsantrasyonunun, kapsüllerdeki ellajik asit konsantrasyonuna oranı üzerinden yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.3.10. Ellajik asit, ürolitin A ve ürolitin B

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin ellajik asit içeriği Çam ve Hışıl (2010) tarafından uygulanan metoda göre kromatografik olarak HPLC ile belirlenmiştir. Bu amaçla 0.01 g toz örnek 10 mL metanol içerisinde 5 dk boyunca vortex kullanılarak homojenize edilmiştir. Bu işlemten sonra elde edilen sıvı, filtreden (0.45 µm) süzülerek HPLC'ye enjekte edilmiştir. Örnekler DGU-20A5 degaz ünitesi, LC-20AD pompa ünitesi, SIL-20AD otomatik örnekleyici, CTO-20AC kolon fırını, SPD-20M20A diode array detektörden oluşan HPLC sisteminde analiz edilmiştir. Bileşenlerin

ayırımı RP C18 kolonda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A olarak %2 asetik asit içeren su, mobil faz B olarak ise metanol kullanılmıştır. Akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmış olup, akış programı ilk 5 dakika %5 B, 25 dakika %5-70 B, 10 dakika %70-5 B şeklindedir. Kolon sıcaklığı 35°C olup, dedeksiyon işlemi 260, 280, 320, 360, and 378 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Örneklerin ellajik asit konsantrasyonu standart ellajik asitin farklı konsantrasyonlarıyla hazırlanan standart çözeltiler ile oluşturulan kurve yardımıyla hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2. Ellajik asit analizi HPLC koşulları

Kolon:	C ₁₈
Kolon sıcaklığı:	35°C
Hareketli faz:	A: Su: Asetik Asit: Su (98:2) B: Metanol (100)
Akış hızı:	1 mL/dk
Dedektör:	Diode Array, 280,378 nm
Enjeksiyon miktarı:	20 µL
Analiz süresi:	40 dk

Ürolitin A ve Ürolitin B konsantrasyonları García-Villalba vd. (2016) tarafından uygulanan metodun modifiye edilmesi ile HPLC sistemine uyarlanarak uygulanmıştır. Örneklerin Ürolitin A ve Ürolitin B konsantrasyonları standart Ürolithin A ve Ürolithin B'nin farklı konsantrasyonlarıyla hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak dış standart yöntemine göre hesaplanmıştır. Mikrobiyal dönüşüm sonucu Ürolitin A ve B miktarının belirlenmesi amacıyla dondurulan örnekler çözündürülmüş ve 30 saniye boyunca vortekslenmiştir. Örnekler 10.000 x 10 dakika santrifüjlenmiş ve berrak kısım 0.45 µm PA filtresinden süzölmüştür. Numuneler, %0.1 formik asit içeren suyla 1:2 oranında seyreltilerek HPLC-DAD'da analiz edilmiştir.

Çizelge 3.3. Ürolitin A ve Ürolitin B Analizi HPLC Koşulları

Kolon:	C ₁₈
Kolon sıcaklığı:	25°C
Hareketli faz:	A: Su: Formik Asit: Su (99,5:0,5) B: Asetonitril (100)
Akış hızı:	0,8mL/dk
Dedektör:	Diode Array, 304,356 nm
Enjeksiyon miktarı:	5 µL
Analiz süresi:	50 dk

Devamı arkada

Çizelge 3.3'ün devamı

Gradient Akış Programı	Dakika	Mobil faz B konsantrasyonu (%)
	0	5
	7	18
	17	28
	22	50
	27	90
	45	90
	47	5
	50	5

3.3.11. İstatistiksel analizler

Püskürterek kurutma yöntemiyle ellajik asidin mikrokapsülasyonunun optimizasyonu için, optimum üretim koşulları Design Expert 7.0 (Stat-Ease Co., Minneapolis, ABD) paket programı kullanılarak karışım deneme desenine göre yanıt yüzey metodu ile belirlenmiştir. Çalışmanın diğer aşamalarında yapılan analizlerin sonuçları ise SAS 9.0 (Statistical Analysis System) paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan varyasyon kaynaklarına ait ortalamaların karşılaştırılması Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Püskürterek Kurutma Koşullarının Optimizasyonu

Püskürterek kurutma yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde kurutma giriş havası sıcaklığı ve taşıyıcı materyallerin kombinasyonları ve oranı önemli birer parametredir. Tez çalışması kapsamında püskürterek kurutucu ile ellajik asit mikrokapsülleri elde edebilmek için taşıyıcı materyallerin oranı ve kurutma havası giriş sıcaklığı bağımsız parametreler olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada taşıyıcı materyal konsantrasyonu besleme çözeltisi hacminin %30'u olacak şekilde sabit tutulmuştur. Kapsüllenen ticari ellajik asit ise taşıyıcı materyal konsantrasyonunun %20'sini oluşturacak şekilde kapsüllenmiştir. Gerçekleştirilen püskürterek kurutma bağımsız değişkenler olarak belirlenen maltodekstrin, arabik gam ve inülinin kullanım oranları ile giriş havası sıcaklığı, bağımlı değişkenler olan mikrokapsüllerin ellajik asit konsantrasyonları ve suda çözünürlük değerleri maksimum düzeyde olacak şekilde istenebilirlik fonksiyonu kullanılarak aşağıda verilen deneme desenine göre (Çizelge 4.1) Design Expert paket programı kullanılarak optimize edilmiştir.

Çizelge 4.1. Püskürterek kurutma yöntemi ile edilen mikrokapsüllerin deneme deseni ve analiz sonuçları

Deneme	MD	AG	İN	Giriş Sıcaklığı(°C)	Ellajik asit miktarı (g/100g KM)	Çözünürlük (%)
1	24.75	5.25	0	145	8.00	5.93
2	30.00	0	0	190	8.00	8.31
3	26.21	3.79	0	175	7.77	6.77
4	12.79	7.21	10	190	7.20	3.41
5	19.32	0.68	10	175	9.16	6.55
6	19.5	10	0.5	130	3.57	6.44
7	17.32	2.68	10	130	8.30	6.68
8	21.08	4.42	4.50	190	7.28	4.81
9	10.9	10	9.1	130	5.29	4.91
10	19.40	5.88	4.72	130	6.79	5.34
11	29.65	0.35	0	160	9.00	8.18
12	21.74	8.26	0	190	4.61	7.36
13	19.40	5.88	4.72	130	5.59	4.29
14	21.05	4.85	4.10	160	7.62	4.48
15	20.80	9.2	0	160	4.47	7.34
16	20	0	10	145	10.30	7.27
17	21.61	0	8.39	190	9.18	5.47
18	14.1	10	5.90	190	5.60	5.26
19	14.74	5.26	10	160	8.37	3.36
20	22.5	0	7.5	160	9.35	7.21
21	21.05	4.85	4.1	160	6.73	5.56
22	28.61	1.39	0	130	7.75	7.08

Devamı arkada

Çizelge 4.1'in devamı

Deneme	MD	AG	İN	Giriş Sıcaklığı(°C)	Ellajik asit miktarı (g/100g KM)	Çözünürlük (%)
23	12.5	10	7.5	160	5.04	3.74
24	24.49	0	5.51	130	6.00	4.83
25	14.74	5.26	10	160	7.82	3.92
26	21.05	4.85	4.10	160	7.68	4.99
27	21.08	4.42	4.50	190	8.51	4.73
28	17.20	10	2.80	175	4.31	5.73

Çizelge 4.2'de verilen ANOVA analizi sonuçlarına göre ellajik miktarının matematiksel olarak en iyi kuadratik model ile ifade edilebildiği tespit edilmiştir. Modele göre ellajik asit miktarı üzerine inülin ve sıcaklığın ikili interaksiyonunun ($p<0,05$) ve maltodekstrin, inülin ve sıcaklık parametrelerinin üçlü interaksiyonlarının ($p<0,05$) istatistiki açıdan önemli olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin R^2 ve R^2 dzl değerleri sırasıyla 0.9495 ve 0.8636 modelin uyum eksikliği değeri ise 0.5361 olarak bulunmuştur.

Buna göre; ellajik asit miktarı için elde edilen modelin örnek varyasyonlarının %94.95'ini tam temsil ettiği ve modelin uyum eksikliği değerinin istatistiksel açıdan önemsiz ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Ellajik asit değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu ve model uygunluğunu test edebilmek için kullanılan istatistikler

Varyasyon Kaynakları	SD	Kareler toplamı	F değeri	p değeri
Model	17	78.83	11.06	0.0002**
AB	1	0.86	2.05	0.1823
AC	1	0.61	1.45	0.2567
AD	1	0.14	0.33	0.5771
BC	1	0.043	0.10	0.7552
BD	1	0.46	1.09	0.3209
CD	1	2.81	6.71	0.0270*
ABD	1	0.86	2.05	0.1830
ACD	1	3.93	9.38	0.0120*
BCD	1	0.54	1.29	0.2827
AD ²	1	1.50	3.59	0.0875
BD ²	1	0.18	0.42	0.5320
CD ²	1	0.14	0.33	0.2764
ABD ²	1	0.29	0.69	0.4258
ACD ²	1	0.018	0.044	0.8388
BCD ²	1	0.44	1.05	0.3300
Kalıntı	10	4.19		
Model uyumsuzluğu	5	2.01	0.92	0.5361
Saf hata	5	2.19		
Toplam	27	83.02		

Devamı arkada

Çizelge 4.2'nin devamı

Varyasyon Kaynakları	SD		Kareler toplamı	F değeri		p değeri
Model	R ²	R ² dzl	Pred-R ²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik*Kuadratik	0.9495	0.8636	-1.7038	9.10	224.48	11.323

Ellajik asit miktarı sonuçları kullanılarak cevap için en uyumlu modelin regresyon eşitliği (Eşitlik 4.1) cevap yüzey metodu ile oluşturulmuştur.

$$EA = 9,33691 * A - 5,90961 * B + 15,0987 * C + 9,87066 * AB - 8,45019 * AC + 0,286671 * AD + 3,35091 * BC + 3,74833 * BD - 9,08466 * CD - 9,21497 * ABD + 18,8439 * ACD + 10,7399 * BCD - 1,56949 * AD^2 - 3,66445 * BD^2 - 3,23703 * CD^2 + 8,36326 * ABD^2 + 2,04628 * ACD^2 + 15,751 * BCD^2 \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte;

EA: Ellajik asit miktarı (g/100g KM)

A: Maltodekstrin (g)

B: Arabik gam (g)

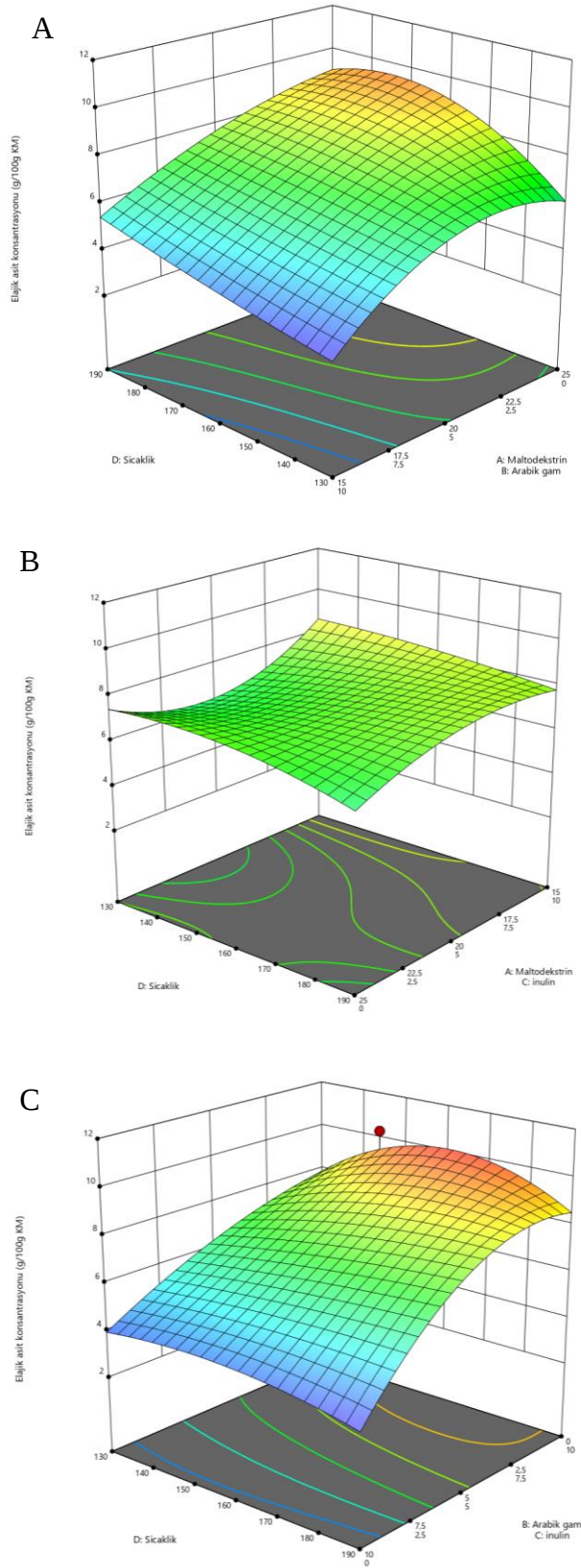
C: İnülin (g)

D: Sıcaklık (°C)

Ellajik asit miktarı için sadece istatistiksel açıdan önemli sayılan varyasyon kaynakları kullanılarak ikinci dereceden bir model eşitliği (Eşitlik 4.2) elde edilmiştir.

$$EA \text{ (g/100g)} = -9,08466 * CD + 18,8439 * ACD \quad (4.2)$$

Deneme desenine göre bağımsız değişkenlerin ellajik asit konsantrasyonu üzerine etkisini gösteren üç boyutlu cevap yüzey grafikleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1). Grafikler incelendiğinde sıcaklık, maltodekstrin ve inülin artışı ile mikrokapsüllerin ellajik asit miktarının arttığı, arabik gam kullanımındaki artışa bağlı olarak ise ellajik asit miktarının azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Sıcaklık ve taşıyıcı materyal parametrelerinin ellajik asit konsantrasyonu üzerine etkisi (Grafiklerde verilmeyen taşıyıcı oranı orta noktada sabit tutulmuştur)

Çizelge 4.3'te verilen ANOVA analizi sonuçlarına göre mikrokapsülasyon işlemi sonucunda elde edilen çözünürlük değerinin matematiksel olarak en iyi kuadratik model ile ifade edilebildiği tespit edilmiştir. Modele göre mikrokapsüllerin çözünürlük değerleri üzerine kullanılan her bir taşıyıcı materyal ve sıcaklık parametrelerinin istatistiki açıdan önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Model denkleminin R^2 ve R^2 dzl değerleri sırasıyla 0.9579 ve 0.8863 modelin uyum eksikliği değeri ise 0.6203 olarak bulunmuştur. Bu sonuç çözünürlük değeri için örnek varyasyonlarının %95.79'unun model tarafından tam temsil edildiği ve modelin uyum eksikliği değerinin istatistiksel açıdan önemsiz ($p>0.05$) olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3. Çözünürlük değerleri üzerine bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu ve model uygunluğunu test edebilmek için kullanılan istatistikler

Varyasyon Kaynakları	SD	Kareler toplamı	F değeri	p değeri		
Model	17	51.47	13.38	<0.0001**		
AB	1	4.75	20.97	0.0010**		
AC	1	0.47	2.09	0.1786		
AD	1	0.97	4.29	0.0652		
BC	1	7.84	34.64	0.0002**		
BD	1	1.40	6.18	0.0322*		
CD	1	1.37	6.06	0.0336*		
ABD	1	1.47	6.49	0.0290*		
ACD	1	0.89	3.95	0.0750		
BCD	1	0.044	0.19	0.6700		
AD ²	1	0.33	1.45	0.2557		
BD ²	1	0.58	2.55	0.1415		
CD ²	1	0.25	1.09	0.3216		
ABD ²	1	0.93	4.13	0.0696		
ACD ²	1	0.73	3.24	0.1018		
BCD ²	1	0.26	1.17	0.3057		
Kalıntı	10	2.26				
Model uyumsuzluğu	5	0.97	0.75	0.6203		
Saf hata	5	1.29				
Toplam	27	53.73				
Model	R²	R²dzl	Pred-R²	CV %	PRESS	Yeterli kesinlik
Kuadratik	0.9579	0.8863	-1.7979	8.33	150.33	12.601

* $p<0.05$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli, ** $p<0.01$ seviyesinde istatistiki açıdan önemli

A=Maltodekstrin; B=Arabik gam; C=İnülin; D= Sıcaklık

Püskürterek kurutma prosesinde sıcaklık, taşıyıcı madde çeşidi ve oranı faktörlerine bağlı olarak çözünürlük oranı için model tarafından oluşturulan regresyon eşitliği (Eşitlik 4.3) aşağıda verilmiştir.

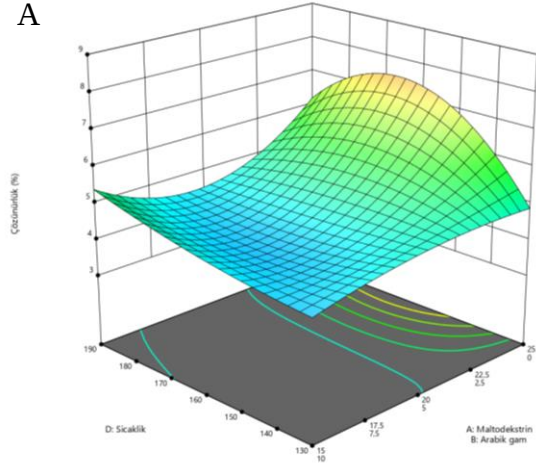
$$\begin{aligned} \text{Çözünürlük (\%)} = & 8.31 * A + 17.98 * B + 10.49 * C - 23.17 * AB - 7.46 * AC + 0.76 * \\ & AD - 45.19 * BC + 6.55 * BD - 6.34 * CD - 12.05 * ABD + 8.98 * ACD - 3.05 * BCD - \\ & 0.73 * AD^2 - 6.64 * BD^2 + 4.29 * CD^2 + 15.03 * ABD^2 - 12.97 * ACD^2 + 12.20 * BCD^2 \end{aligned} \quad (4.3)$$

Çözünürlük değeri için sadece istatistiksel açıdan önemli sayılan varyasyon kaynakları kullanılarak elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir (Eşitlik 4.4).

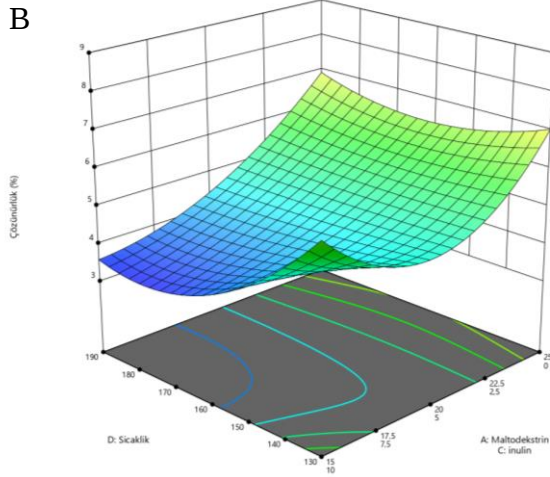
$$\text{Çözünürlük (\%)} = - 23.17 \cdot AB - 45.19 \cdot BC + 6.55 \cdot BD - 6.34 \cdot CD - 12.05 \cdot ABD \quad (4.4)$$

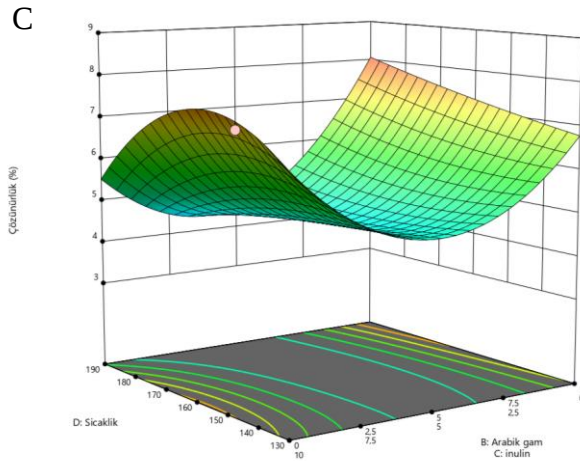
Deneme desenine göre bağımsız değişkenlerin ellajik asit konsantrasyonu üzerine etkisini gösteren üç boyutlu cevap yüzey grafikleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.2). Grafikler incelendiğinde püskürterek kurutma giriş sıcaklığının 160 °C dolaylarında olduğunda ve yüksek maltodekstrin seviyelerinde mikrokapsüllerin genellikle daha yüksek çözünürlük gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte, maltodekstrin miktarı sabit tutulduğunda hem inülin hem de arabik gam miktarındaki artışın da çözünürlük üzerinde arttırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir.

A



B





Şekil 4.2. Sıcaklık ve taşıyıcı materyal parametrelerinin çözünürlük üzerine etkisi (Grafiklerde verilmeyen taşıyıcı oranı orta noktada sabit tutulmuştur)

Ellajik asit miktarı ve yüzde suda çözünürlük değerlerinin maksimum olduğu mikrokapsüllerin doğrulama denemelerinin sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Doğrulama sonuçlarının programın önerdiği modelde tahminlenen değerlere yakın olduğu görülse de belirlenen hata değerinin ellajik asit konsantrasyonu için %11.59 çözünürlük değerinin ise %18.77 olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Püskürterek kurutma yöntemi ile optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin teorik ve deneysel sonuçları

	Elajik asit konsantrasyonu (g/100g KM)	Çözünürlük Analizi (%)
Teorik	10.08	7.560
Deneysel	11.39	9.307
Hata (%)	11.50	18.77

4.1.1. Püskürterek kurutma koşullarının ellajik asit miktarı üzerine etkisi

Tez kapsamında ellajik asidin suda çözünürlüğü, dolayısıyla biyoyararlılığını arttırmak amacıyla püskürterek kurutma ile mikrokapsülasyon yöntemi denenmiş ve bu çalışmada mikrokapsüllerin üretimi için en uygun şartlar giriş havası sıcaklığı 158°C ve optimum taşıyıcı materyal kombinasyonu ise %20 maltodekstrin-%10 inülin olarak bulunmuştur. Optimum koşullar altında üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin kurutma verimi %62.8 olarak hesaplanmıştır. Yapılan optimizasyon çalışması ile taşıyıcı materyal seçimi ve sıcaklığın ellajik asit miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Nitekim literatürde de aktif bileşenlerin enkapsülasyonu üzerinde sıcaklık ve kullanılan taşıyıcı bileşimi etkili faktörler olarak bildirilmiştir.

Çam vd. (2014) yapmış oldukları çalışma ile nar kabuğu ekstraktını püskürterek kurutma tekniği ile enkapsüle etmiş ve bu işlemin optimum koşullarının giriş hava sıcaklığı 160°C ve fenolik madde/maltodekstrin oranı 1/1 veya 1/3 olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada giriş havası sıcaklığındaki 160°C'ye kadar olan artış ile üretim veriminin de arttığı, daha yüksek sıcaklıklarda ise sıcaklığın verim üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir.

Farklı taşıyıcıların mikroenkapsülasyon etkinliği üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada hedef bileşen olarak mısır yağı seçilmiştir. Sabit kurutma sıcaklıklarında gerçekleştirilen bu çalışmada taşıyıcı olarak %20 oranlarında arabik gam (AG), brea gamı ve inülin kullanılmıştır. Çalışmada sadece brea gamı ve arabik gam kullanılarak gerçekleştirilen üretimlerde kapsülleme verimliliği sırasıyla %76.12 ve %88.66 olarak belirlenmiştir. Taşıyıcıların bileşimine ilave olarak %20 oranında inülin eklenerek üretimler tekrarlandığında kapsülleme verimliliğinin daha da arttığı, %20 oranında brea gamı ve inülin eklenmesiyle bu verimliliğin %91.72 düzeylerine kadar çıktığı belirtilmiş ve inülinin taşıyıcı olarak kullanımının hidrofobik bileşikler için iyi bir alternatif taşıyıcı ajan olarak seçilebileceği değerlendirilmiştir (Castel vd. 2018).

4.1.2. Püskürterek kurutma koşullarının çözünürlük üzerine etkisi

Püskürterek kurutma yöntemi ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminin optimum koşullarını elde edebilmek amacıyla yapılan denemeler sonucunda, kullanılan taşıyıcı materyallerin ve giriş havası sıcaklığının istatistiki açıdan önemli olduğu ve sıcaklıkta belirli bir düzeye kadar gerçekleşen artışın ellajik asit mikrokapsüllerinin yüzde çözünürlüğünü arttırmada etkili olduğu belirlenmiştir. Optimum koşullar altında üretilen ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asit tozlarının suda çözünürlük değerleri karşılaştırılmış ve bu oran sırasıyla %10.77 ve %0.51 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda mikroenkapsülasyon işlemi ile ticari ellajik asidin çözünürlük değerinin 21.5 kat arttırıldığı tespit edilmiştir.

Alfei vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ellajik asitin biyoyararlanımını arttırmak amacıyla ellajik asit, düşük metoksilli pektin kullanılarak püskürterek kurutulmuş ve katı mikrodispersiyonlar oluşturulmuştur. Çalışmada farklı sıcaklık, akış hızı ve ellajik asit/pektin oranı değiştirilerek farklı formülasyonlar hazırlanmış ve en uygun değerlerin 160°C kurutma sıcaklığı, 11 ml/dk besleme hızı ve 1/4.5 ellajik asit/pektin oranı (w/w) olduğu bulunmuştur. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre ellajik asitin sudaki çözünürlüğünün 30 kat arttırıldığı ve antioksidan aktivitesinde kayda değer bir artış olduğu belirtilmiştir.

Nar kabuğu bileşiminde bulunan biyoaktif bileşenlerin püskürterek kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu üzerine taşıyıcı materyal türünün ve konsantrasyonunun araştırıldığı bir çalışmada taşıyıcı olarak maltodekstrin ve peyniraltı suyu proteini kullanılmıştır. Çalışmada %70'in altında bir taşıyıcı kullanımı durumunda kurutmanın gerçekleştirilemediği, %70 oranında taşıyıcı kullanıldığında elde edilen ürünleri aşırı derecede higroskopik özellikte olduğu ve %80 ve üzerinde taşıyıcı kullanımı durumunda ise başarılı bir şekilde toz formda ürün üretilebildiği belirtilmiştir. Maltodekstrin ve peyniraltı suyu proteini ile kapsüllenen aktif bileşenlerin sudaki çözünürlük değerleri %80 ve %120 oranında taşıyıcı kullanıldığında sırasıyla %83.46-87.04 ve %65.34-63.34 arasında değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir (Şavikin vd. 2021).

Benzer literatür çalışmaları da değerlendirildiğinde, kullanılan hammadde ve uygulanan analiz yöntemine göre çözünürlük sonuçlarının değişiklik gösterebileceği tespit edilmiştir.

4.1.3. Püskürterek kurutma yöntemi ile ellajik asitin enkapsülasyonun, model mide ve bağırsak sisteminde (*in vitro*) ellajik asit salınımına etkisi

Gastrointestinal sindirim sürecini simüle etmek için bölüm 3.2.3 başlığı altında detayları verilen analiz gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar altında püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asit yapay mide sıvısında 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda örnek alınmıştır. Daha sonra mide sıvısının pH değeri 6.8'e ayarlanarak pankreatin enzimi eklenmiş ve iki saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda alınan örnekler HPLC ile kromatografik olarak analiz edilmiş ve ellajik asit miktarları değerlendirilmiştir. (Çizelge 4.5)

Çizelge 4.5. Optimum koşullarda üretilmiş ellajik asit mikrokapsülü ve ticari ellajik asit tozlarının *in vitro* mide ve bağırsak koşulları altında ellajik asit konsantrasyonu

	Başlangıç (g/100g)	Mide ortamı (g/100mL)	Bağırsak ortamı (g/100mL)
EA Mikrokapsülü	12.77±0.35	6.80±0.26	51.80±2.84
Ticari EA	45.00±0.52	44.43±4.03	104.58±5.47

Mevcut çalışma iki temel amaç çerçevesinde yürütülmüştür. İlk olarak ellajik asidin sudaki çözünürlüğünün artırılarak emiliminin artırılması, daha sonra ellajik asitin mümkün olan en yüksek konsantrasyonda bağırsağa taşınması sağlanarak, kolon mikroflorası tarafından fermente edilmesiyle yüksek biyolojik aktiviteye sahip olan ürolitinlere dönüşümü hedeflenmektedir.

In vitro salınım testi sonuçları incelendiğinde ellajik asit mikrokapsüllerinin başlangıç EA miktarı 12.77 (g/100g), mide ortamında iki saatlik inkübasyon sonrası EA miktarı 6.8 (g/100g) ve bağırsak ortamında iki saatlik inkübasyon sonrası EA miktarı ise 51.80 (g/100g) olarak bulunmuştur. Mikrokapsüllerin EA miktarı midede başlangıçtaki ellajik asit miktarına kıyasla daha düşük oranda tespit edilmişken, yapay bağırsak koşulları altında ise yaklaşık 4 katlık bir artış göstermiştir. Aynı analiz prosedürleri izlenerek ticari ellajik asidin *in vitro* salınım testi gerçekleştirilmiştir. Ellajik asit miktarları kıyaslandığında başlangıç ve yapay mide ortamındaki EA miktarı neredeyse stabil kalırken, yapay bağırsak ortamındaki EA miktarı başlangıca kıyasla yaklaşık 2 kat artış göstermiştir.

Simüle edilmiş mide ve bağırsak koşullarının, özellikle pH faktörünün ellajik asit miktarı üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve bağırsak koşullarında ellajik asidin miktarının her iki ellajik asit tozunda da artış gösterdiği görülmüştür. Ancak optimum koşullar altında üretilen mikrokapsüllerin ticari ellajik aside kıyasla yapay bağırsak sıvısında salınımında 2 kat daha artış sağladığı tespit edilmiştir.

Yapılan *in vitro* sindirim çalışmaları, genel olarak ellajitanenlerin midenin fizyolojik koşulları altında (pH 1.8–2.0 ve mide enzimleri) oldukça kararlı olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, ince bağırsağın fizyolojik koşulları altında, ellajitanenlerin hidrolize olarak serbest ellajik asit salınımının gerçekleştirildiği ve bu hidroliz reaksiyonunun pankreas enzimleri ve safra tuzlarının etkisinden ziyade pH koşullarından

(nötr ila hafif alkali pH, 7.0-7.3) kaynaklandığı düşünülmektedir. (Landete 2011). Nitekim ellajik asit in çözünürlüğünün de pH değerlerine bağlı olduğu ve asidik koşullar altında neredeyse çözünmezken bazik pH ile çözünürlüğünün önemli ölçüde artış gösterdiği görülmüştür (Zheng vd. 2019)

Ellajik asidin farklı pH ve bağırsak sistemindeki koşullar altında ellajitanenlerden *in vitro* olarak serbest hale geçmesini tespit edebilmek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışma yer almaktadır. Ayrıca, ahududu ekstraktı ve hidrolize olabilen tanenlerden casuariktin, farklı pH'larda ve AIN-76A diyetiyle beslenen sıçanlardan alınan ince bağırsak ve çekum (kalın bağırsak) içerikleriyle muamele edilmiş örneklerdeki ellajik asit miktarı incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda pH 2, pH 7, pH 8 ve ince bağırsak ile kalınbağırsaktaki ellajik asit miktarları karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ahududu ekstraktı ve casuariktinin pH 2 dışındaki koşullar altında (pH 7, pH 8 ince bağırsak ile kalın bağırsak) hidrolize olmasıyla başlangıç ellajik asit miktarına kıyasla ellajik asit miktarında artış gözlemlenmiş ve tüm sonuçlar değerlendirildiğinde bağırsak pH'sında ellajik asit salınımının gerçekleştiği rapor edilmiştir (Daniel vd. 1991).

İnkübasyon sonrası simüle bağırsak ortamındaki ellajik asit miktarının başlangıçtaki, ellajik asit miktarına oranla artış göstermesinin bir diğer sebebi ise ticari olarak satın alınan nar kabuğu kaynaklı ellajik asidin % 40 saflıkta olup başka bileşenleri de içermesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bunun sebebinin satın alınan ticari ellajik asidin içerisindeki diğer bileşenlerin ellajitanenler olabileceği ve bu bileşenlerin de simüle bağırsak sıvısında hidrolize uğrayarak ellajik asit miktarında artışa sebep olabileceği düşünülmektedir. Nitekim Lei vd. (2003) nar yaprağı ekstraktının oral uygulamasından sonra sıçanlarda ellajik asidin farmakokinetik çalışmasını gerçekleştirmişler ve yüksek miktarda ellajik asit tespit etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda bu durumun sebeplerinden birinin de kullanılan nar yaprağı ekstraktının saf ellajik asit dışında farklı bileşenleri de içermesinin etkili olabileceğini rapor etmişlerdir.

Álvarez-Cervantes vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada maltodekstrin ve arabik gam kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile nar suyu mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen tozların *in vitro* sindiriminden sonra antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarları değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda *in vitro* sindirime tabi tutulmuş mikrokapsüllerin (antioksidan bileşiklerinin salınarak), sindirilmemiş mikrokapsüllere oranla antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği önemli ölçüde daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir.

Gerçekleştirilen bir başka çalışmada punikalajin ve ellajik asidin ve zamana bağlı değişim ve gelişim sürecini incelemek için hücre ortamının (Caco-2 hücreleri ile) analizi yapılmış punikalajinin hızla kaybolduğu ve ellajik asit miktarının arttığı görülmüştür (Larrosa vd. 2006).

González-Sarrias vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada gönüllü bireyler üzerinde nar ekstraktlarının tüketiminden sonra farmokinetik bir çalışma düzenlemiş, aynı zamanda gastrointestinal koşulların (pH ve sindirim enzimleri) nar ekstraktlarında bulunan ellajitanenler (punikalajin ve punikalın) ve ellajik asit üzerindeki etkisini de değerlendirmişlerdir. Punikalajinin gastrik koşullar altında 2 saat boyunca oldukça stabil kaldığı görülmüştür. Bu durum mide koşulları altında punikalajinin

hidroliz edilmediğini ve EA salınımının gerçekleşmediğini göstermiştir. Bağırsak koşulları altında ise pH 2.8'den 7.6'ya çıkarılmış, EA'nın çözünürlüğünün ve mide koşulları altındaki konsantrasyonuna kıyasla bağırsaktaki konsantrasyonunun arttığı gözlemlenirken ve punikalajın tespit edilemediği rapor edilmiştir.

4.1.4. Püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilen ellajik asitin ürolitin A ve ürolitin B dönüşümüne etkisi

Ellajitanenlerin ve ellajik asidin biyoyararlanımının çok düşük olup ve bu bileşenlerin vücut tarafından ürolitin formunda çok daha iyi emilebildiği bilinmektedir. Bu bileşenler sindirim sırasında kolondaki bağırsak mikroflorası tarafından ürolitine metabolize edilebilmektedir. Dolayısıyla ellajitanenlerin ve ellajik asitin biyoyararlılığındaki temel göstergelerden biri de mikroorganizma kaynaklı olarak gerçekleşen dönüşümlerdir.

Bugüne kadar literatürde ellajik asitin ürolitine dönüşümünde rol alan az sayıda mikroorganizmanın özel suşları rapor edilmiş ve bu suşların birbirlerinden farklı EA katabolizması mekanizmalarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalar, ürolitin molekülünün tüm bireylerde aynı oranda üretilmediği, hangi ürolitin türünün ve ne kadar üretildiği konusunda önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir (Cerdá vd. 2005a). Bu yüzden literatürde bağırsak mikroflorasında ürolitin ve türevlerinin oluşumunda ET ve EA'ların parçalanmasından sorumlu mikroorganizmaların tanımlanması ve incelenmesi aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir (Bravo vd. 2017).

Bu kapsamda *Bifidobacterium pseudocatenulatum* suşundan yararlanılarak mikrokapsüle edilmiş ve edilmemiş olan ticari formdaki ellajik asitin ürolitinlere dönüşümünün incelenmesi amacıyla fermentasyon çalışmaları yürütülmüştür. Çalışmalarda bakteri inoküle edilmemiş olan besiyeri ortamı kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari formda ellajik asit ile hazırlanan besi ortamına suş inoküle edilerek kontrol, kapsül ve ticari olmak üzere her üç gruptaki ellajik asidin süreye (0, 6, 12, 24, 48 saat) bağlı ürolitin-A ve ürolitin-B'ye metabolize edilme seviyeleri incelenmiş, bu bileşenlerin miktarı HPLC ile kromatografik olarak analiz edilmiştir. Analizler sonucunda mikroorganizma içermeyen kontrol grubunda Üro-A ve Üro-B tespit edilememiştir. Optimum koşullarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin ve ticari ellajik asidin *Bifidobacterium pseudocatenulatum* ile 48 saatlik inkübasyonu sonucunda ise 0. saat hariç diğer tüm saatlerde ellajik asidin biyotransformasyona uğradığı ve ürolitin A ve ürolitin B'ye dönüşümünün gerçekleştiği belirlenmiştir.

İnkübasyon koşullarında yürütülen denemeler sonucunda ellajik asitin süreye bağlı olarak ürolitin A ve ürolitin B'ye dönüşümler tespit edilmiş olup, bu dönüşümler Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde mikroenkapsüle edilmiş ellajik asitin ticari formdaki ellajik asite kıyasla her iki ürolitin türüne daha yüksek düzeyde dönüşüm gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Ayrıca ürolitin konsantrasyonlarının inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı pozitif bir korelasyon gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.6. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-A üretimi ve konsantrasyon değerleri değişimi

Ürolitin-A (mg/L)		İnkübasyon Süresi (saat)				
		0	6	12	24	48
EA Mikrokapsülü	5 log	0	7.52±0.07	22.68±0.50	43.85±0.28	15.53±0.38
	6 log	0	7.97±0.04	23.84±0.15	63.16±0.45	38.63±0.67
	7 log	0	8.44±0.06	42.60±0.03	67.36±0.25	41.78±0.34
Ticari EA	5 log	0	5.36±0.01	15.70±0.17	27.11±0.22	15.09±0.11
	6 log	0	5.53±0.04	22.89±0.12	42.62±0.05	27.97±0.42
	7 log	0	6.18±0.04	35.19±0.05	65.68±0.38	34.28±0.47

Çizelge 4.7. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-B üretimi ve konsantrasyon değerleri değişimi (ppm)

Ürolitin-B (mg/L)		İnkübasyon Süresi (saat)				
		0	6	12	24	48
EA Mikrokapsülü	5 log	0	4.85±0.03	5.58±0.21	9.84±0.22	18.48±0.23
	6 log	0	8.13±0.13	10.86±0.17	17.63±0.12	24.62±0.28
	7 log	0	10.70±0.10	13.39±0.34	20.16±0.27	37.39±0.71
Ticari EA	5 log	0	4.22±0.04	4.40±0.06	8.60±0.13	9.86±0.15
	6 log	0	6.19±0.02	8.48±0.20	13.01±0.25	22.51±0.38
	7 log	0	9.16±0.08	8.96±0.02	18.43±0.14	34.87±0.64

Gerçekleştirilen inkübasyon çalışmalarında ellajik asitin Üro-A bileşenine dönüşümü üzerine ellajik asit formunun, mikrobiyal yükün ve inkübasyon süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları Çizelge 4.8’de, önemli bulunan farklılıklara ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.9’da verilmiştir. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde, ürolitin-A miktarı için inkübasyon süresinin, mikrobiyal yükün ve inkübasyona tabi tutulan ellajik asidin toz formunun (ellajik asit mikrokapsülü/ticari ellajik asit) ve varyasyon kaynaklarının çeşitli interaksiyonlarının etkisinin istatistiki açıdan önemli düzeyde ($p<0.01$) etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin A üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Süre	4	4984.96	37603.60**
Mikrobiyal Yük	2	1106.90	8349.79**
EA formu	1	424.10	3199.14**

Devamı arkada

Çizelge 4.8'in devamı

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
İnkübasyon Süresi *	8	217.00	1636.90**
Mikrobiyal Yük			
İnkübasyon Süresi	4	72.81	549.26**
*EA formu	2	12.43	93.79**
Yük* EA formu			
İnkübasyon Süresi	8	31.88	240.49**
Mikrobiyal Yük			
EA formu			
Hata	30	0.13257	

p<0.05 seviyesinde istatistiki açıdan önemli, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan önemli

Çizelge 4.9. Optimum koşullar altında üretilmiş ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin-A üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

EA Formu	EA				
	Ticari EA	Mikrokapsülü			
	20.24 ^b ±3.39	25.56 ^a ±4.07			
	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷		
Mikrobiyal	15.28 ^c ±2.94	23.26 ^b ±4.51	30.15 ^a ±5.55		
Yük					
İnkübasyon	0	6	12	24	48
Süresi	0.00 ^e ±0.00	6.84 ^d ±0.36	27.15 ^c ±2.71	51.63 ^a ±4.47	28.88 ^b ±3.16

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Kullanılan ellajik asit formunun, mikrobiyal yükün ve inkübasyon süresinin ürolitin-A üretimi üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre EA mikrokapsüllerinin inkübe edilmesiyle elde edilen örneklerin ürolitin A konsantrasyonu açısından grup ortalaması, ticari EA'nın inkübe edilmesiyle üretilen örneklerin grup ortalamasına kıyasla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Ayrıca başlangıç mikrobiyal yük düzeyindeki artışa bağlı olarak EA'nın ürolitin A'ya dönüşümü önemli seviyede artış göstermiştir. Bunun yanı sıra ilk 24 saat ürolitin A konsantrasyonu artarken 48. saat sonunda yapılan analizler sonucu ürolitin-A miktarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen inkübasyon çalışmalarında ellajik asitin ürolitin-B'ye dönüşümü üzerine ellajik asit formunun, mikrobiyal yükün ve inkübasyon süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları Çizelge 4.10'da, önemli bulunan farklılıklara ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.11'de verilmiştir. Çizelge 4.10'da verilen varyans analizi sonuçları incelendiğinde, ürolitin-B miktarı için inkübasyon süresinin, mikrobiyal yükün ve inkübasyona tabi tutulan toz formunun (ellajik asit mikrokapsülü/ticari ellajik asit) ve varyasyon kaynaklarının çeşitli interaksiyonlarının etkisinin istatistiki açıdan önemli düzeyde (p<0.01) etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak, mikrobiyal yük ve toz çeşidinin ikili interaksiyonlarının ürolitin B dönüşümü üzerine etkisinin istatistiki açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin B üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Kareler Ortalaması	F
İnkübasyon Süresi	4	1018.93	8915.11**
Mikrobiyal Yük	2	380.74	3331.29**
EA formu	1	72.38	633.29**
İnkübasyon Süresi *	8	69.65	609.37**
Mikrobiyal Yük	4	8.06	70.56**
Süre* EA formu	2	0.11	0.92
Yük* EA formu	8	4.92	43.05**
Süre*Mikrobiyal	30	0.11	
Yük* EA formu			
Hata			

p<0.05 seviyesinde istatistiki açıdan önemli, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan önemli

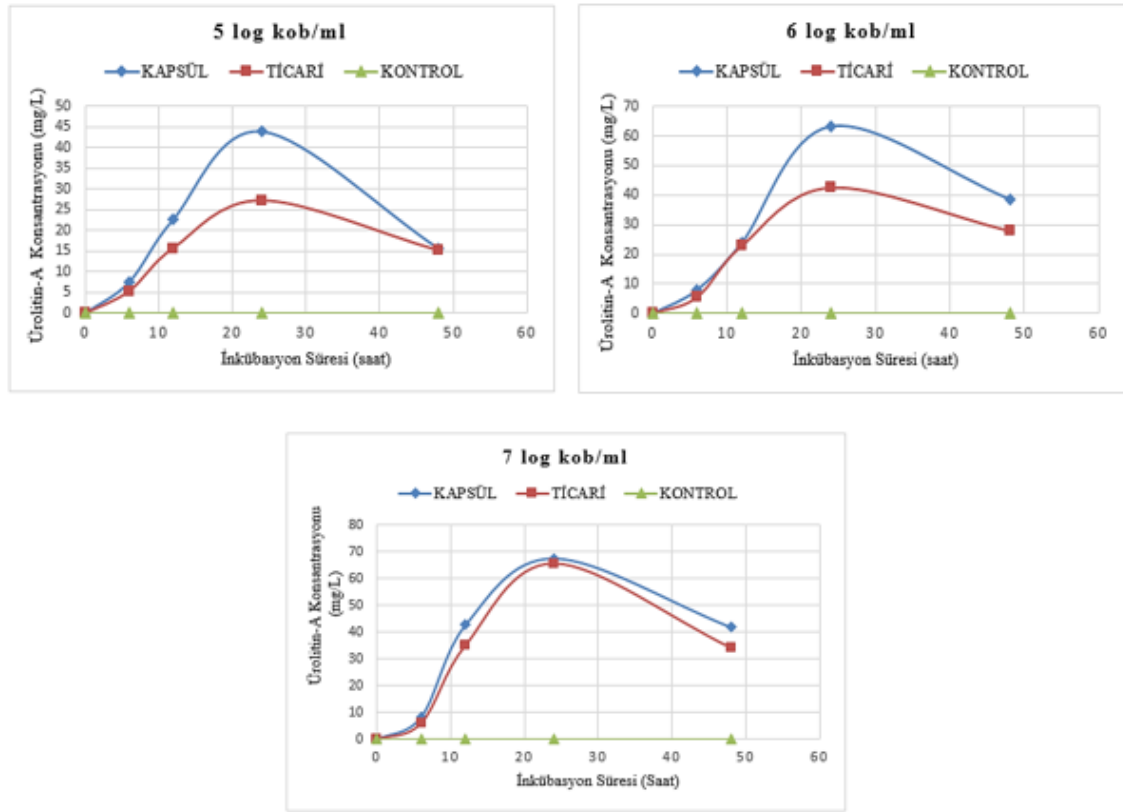
Çizelge 4.11. Optimum koşullar altında üretilmiş toz formdaki ellajik asit mikrokapsülleri ve ticari ellajik asitten inkübasyon süresi ve mikrobiyal yüke bağlı ürolitin B üretimi ve konsantrasyon değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

EA Formu	EA				
	Ticari EA	Mikrokapsülü			
	9.91 ^b ±1.69	12.11 ^a ±1.85			
Mikrobiyal	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷		
Yük	6.58 ^c ±1.19	11.14 ^b ±1.84	15.31 ^a ±2.79		
Süre	0	6	12	24	48
	0.00 ^e ±0.00	7.21 ^d ±0.70	8.61 ^c ±0.91	14.61 ^b ±1.33	24.62 ^a ±2.83

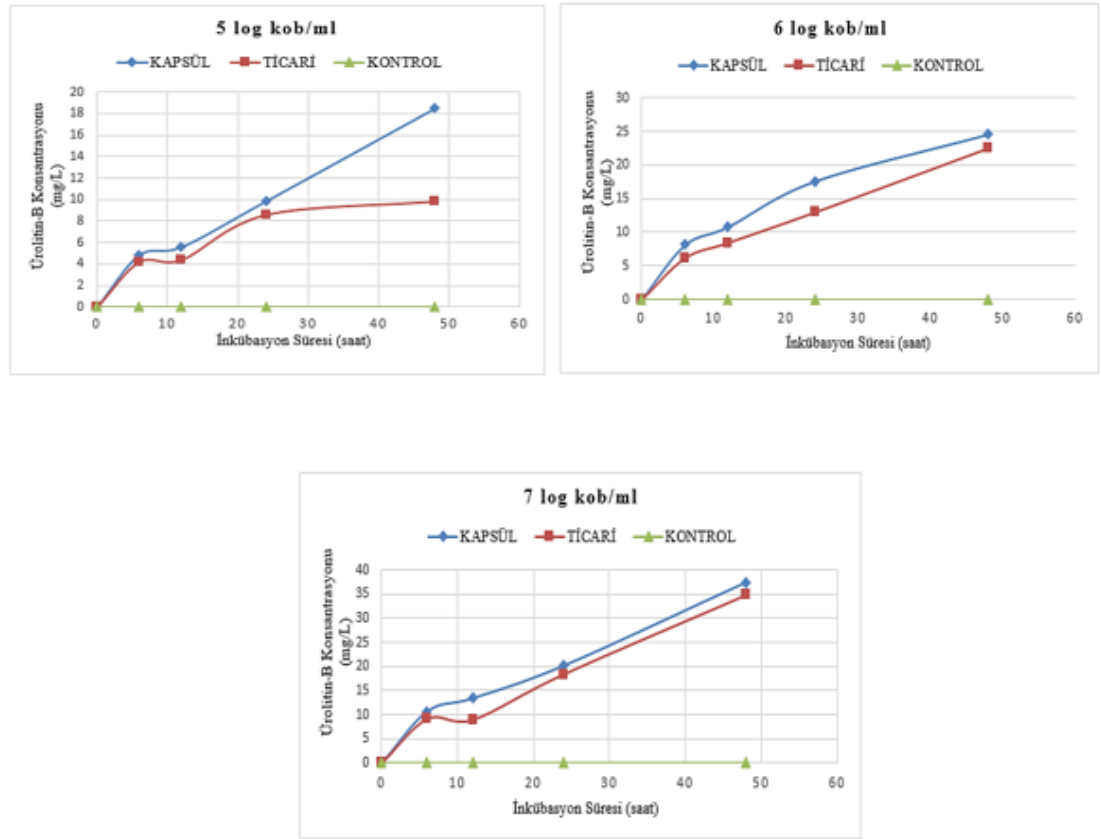
Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

İnkübasyonda kullanılan ellajik asit formunun mikrobiyal yükün ve inkübasyon süresinin ürolitin-B üretimi üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre ticari ellajik asite kıyasla ellajik asit mikrokapsüllerinin fermentasyonu sonucu ürolitin B'ye dönüşümündeki artış istatistiksel açıdan önemli seviyede yüksek bulunmuştur (p<0.05). Başlangıç mikrobiyal yükün artmasıyla elde edilen örneklerin grup ortalamaları incelendiğinde EA'nın ürolitin B'ye dönüşümünün önemli düzeyde arttığı görülmektedir. İnkübasyon süresinin artışı da benzer şekilde ürolitin B konsantrasyonunda istatistiki olarak önemli seviyede artış meydana getirmiştir.

Ellajik asit mikroenkapsüllerinin ve ticari ellajik asitin *Bifidobacterium pseudocatenulatum* DSM20438 suşu kullanılarak 37°C'de 48 saat süresince gerçekleştirilen inkübasyon çalışması sonucunda kullanılan suş konsantrasyonuna ve süreye bağlı olarak (0., 6., 12., 24. ve 48. saat) elde edilen ürolitin A ve ürolitin B konsantrasyonlarındaki değişim sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3. *B. pseudocatenulatum* ile bakteriyel yük ve inkübasyon süresine bağlı ürolitin A değişimi



Şekil 4.4. *B. pseudocatenulatum* ile bakteriyel yük ve inkübasyon süresine bağlı ürolitin B değişimi

Gerçekleştirilen inkübasyon çalışmasının sonuçlarına göre ellajik asitin metabolize olarak ürolitin A formuna dönüşümünün belirli bir süreye kadar arttığı, daha sonra ise azalmaya başladığı tespit edilmiştir. Ellajik asitin ürolitin B formuna dönüşümünün ise test edilen süreler içinde genellikle bir artış trendi içinde olduğu belirlenmiştir. Nitekim, literatürde ellajik asit ve bir dizi ellajitanen içeren ceviz ekstraktı üzerinde yürütülen bir çalışmada da ürolitin A oluşumu üzerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. İlgili çalışmada farklı bireylere ait inkübe edilen dışkı ortamına ilave edilen ekstraktta ürolitin A oluşumu 5, 24, 48 ve 72 saat boyunca takip edilmiştir. Çalışma sonucunda ellajik asitin ürolitin A'ya dönüşümünde bireyler arasında farklılık gözlemlense de en yüksek ürolitin A konsantrasyonu 24. ve 48. saatler sonunda analiz edilen örneklerde görülmüş, 72. saat sonunda ise giderek azalan bir ürolitin A konsantrasyonu rapor edilmiştir (Cerdá vd. 2005a).

Ellajik asitten ürolitin A üretebilmek amacıyla yapılan başka bir çalışmada sağlıklı kadınların sütünden *Streptococcus thermophilus* FUA329 suşu izole edilmiş ve izole edilen bu suş ile ürolitin A'ya dönüşümün gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise ellajik asidin *S. thermophilus* FUA329 suşu ile inkübe edildikten 44 saat sonra ürolitin A oluşumu gözlemlenmiş ve 50 saatte ürolitin A miktarı en yüksek seviyeye ulaşmış ve 50. saatin sonunda ise ürolitin A miktarı azalmaya başlamıştır.

Ellajik asitin ürolitinlere dönüşümü üzerine tespit edilebilen çalışmalar incelendiğinde bu dönüşümün birçok farklı parametreye bağlı olarak değişiklik gösterdiği tespit edilmiş ve tez çalışmasında elde edilen bulguların literatürle uyumu olduğu değerlendirilmiştir.

4.2. Püskürterek Kurutma Yöntemi ile Mikroenkapsüle Edilen Ellajik Asitin Fizikokimyasal Özellikleri

4.2.1. Nem oranı ve su aktivitesi değişimi

Gıda maddelerinde bulunan su, gıda ürünlerinin işlenmesinde ve muhafazasında önemli bir rol oynamaktadır. Gıdanın nem içeriği ve su aktivitesi, bir ürünün kimyasal ve mikrobiyolojik stabilitesinin yanı sıra fiziksel ve tekstürel özelliklerini de etkilemektedir (Adamiec 2009). Özellikle toz ürünlerde ürünün topaklaşma ve kekleşme problemlerini önlemek, akabilirliğinin korumasını sağlamak ve biyoaktif maddelerin bozunmasını engellemek daha düşük bir nem ve su aktivitesi içeriğinin tercih edilmesinin sebepleri arasında yer almaktadır (Ramakrishnan vd. 2018). Genel olarak, bir gıda sistemindeki biyokimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar, nem içeriği %6'dan az ve su aktivitesi 0,6'dan az olduğunda inhibe edilebilir ve ürünün bozulması önenebilir (Fellows 2009).

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen toz ellajik asit mikrokapsüllerinin nem ve su aktivitesi değerleri Çizelge 4.12'de, nem değerleri üzerine, depolama süresinin ve depolama sıcaklığının etkisini gösteren varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.13'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde iki farklı depolama sıcaklığında ve depolama süresince nem değerleri %7.78-9.14 arasında, su aktivitesi değerleri ise 0.33-0.40 arasında değiştiği görülmektedir. Depolama süresine bağlı olarak örneklerin nem ve su aktivitesi değerlerinde artış gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.12. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem ve su aktivitesi oranları değişimi (%)

		Depolama Süresi (Gün)			
		0	15	30	45
Nem	Depolama Sıcaklığı (°C)				
	4°C	7.78±0.23	7.95±0.25	8.08±0.14	8.24±0.06
aw	25°C	7.78±0.23	8.03±0.16	8.19±0.24	9.14±0.15
	4°C	0.33±0.00	0.35±0.00	0.37±0.01	0.39±0.00
	25°C	0.33±0.00	0.36±0.01	0.38±0.00	0.42±0.01

Çizelge 4.13. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.29430625	3.98
Süre	3	0.60447292	8.17**
Sıcaklık* Süre	3	0.17507292	2.37
Hata	8	0.07398125	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Çizelge 4.13 incelendiğinde nem değerlerinin depolama sıcaklığı ve sıcaklık süre interaksyonundan istatistiki açıdan önemli düzeyde etkilenmediği, depolama süresinden ise p<0.01 düzeyinde istatistiki açıdan etkili olduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.14'te verilen depolama sıcaklığının ve depolama süresinin ellajik asit mikrokapsüllerinin nem değerleri üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre 4°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanan örnek gruplarının nem değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı, 25°C' de depolanan örnek grubun nem değeri ortalamasındaki artışın daha fazla olduğu görülmektedir. Depolama süresine bağlı olarak nem değerlerinde görülen artışın etkisi depolamanın 15. ve 30. günlerinde istatistiksel olarak önemsizken, depolamanın 45. gününde önemli seviyede arttığı bulunmuştur. Bu artışlar istatistiki açıdan önemli gözükse de özellikle su aktivitesinin 0.6 değerinden düşük olması sebebi ile ürünlerin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal açıdan stabil olduğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.14. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı nem değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık (°C)	4°C	25°C		
	8.01 ^a ±0.10	8.28 ^a ±0.21		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	7.78 ^b ±0.13	7.99 ^b ±0.12	8.13 ^b ±0.12	8.69 ^a ±0.27

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.14 incelendiğinde mikrokapsüllerin su aktivitesi değerleri üzerinde depolama sıcaklığı p<0.05 ve depolama süresinin p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan önemli bulunurken, sıcaklık ve sürenin ikili interaksyonun önemli düzeyde etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı su aktivitesi değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.00072092	8.64*
Süre	3	0.00429278	51.43**
Sıcaklık* Süre	3	0.00017426	2.09
Hata	8	0.00008347	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Çizelge 4.16. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı su aktivitesi değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık	4 °C	25 °C		
	0.36 ^b ±0.01	0.37 ^a ±0.01		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	0.33 ^d ±0.00	0.36 ^c ±0.01	0.37 ^b ±0.01	0.40 ^a ±0.01

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.16’da verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre, 4°C’ de depolanan mikrokapsüllerin ortalama su aktivitesi değeri 0.36 iken, 25°C’ de depolanan örnek grubunda 0.37 olarak bulunmuştur. Depolama süresine bağlı olarak su aktivitesi değerlerinde önemli bir artış gözlenirken, aynı günü temsil eden mikrokapsüllerin yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerinin de su aktivitesi değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Mikrokapsüllerin su aktivitesi değerlerinin, depolama süresi ve depolama sıcaklığından istatistiki açıdan önemli düzeyde etkilenmekte olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde Juçara (*Euterpe edulis* M.) posası, üç farklı taşıyıcı materyal (jelatin, arabik gam ve maltodekstrin) kullanılarak püskürterek kurutma tekniği ile mikrokapsüllenmiş ve optimum koşullar altında üretilen mikrokapsüllerin nem içeriklerinin %4.94-10.17 aralığında, su aktivitesi değerlerinin ise 0.40–0.44 aralığında bulunduğu rapor edilmiştir (Bicudo vd. 2015).

Pang vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada kedi bıyığı otu yaprağının ekstraktı (*Orthosiphon stamineus*) peyniraltı suyu protein izolatu ve maltodekstrin kullanılarak püskürterek kurutma tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Elde edilen tozların ortalama nem içeriği değerleri peyniraltı suyu protein izolatu ile kapsüllenmiş tozlar için %8.37 ile %9.61 ve maltodekstrin ile kapsüllenmiş tozlar için ise %6.21 ile %8.91 arasında olduğu bildirilmiştir.

Literatür sonuçları değerlendirildiğinde tez kapsamında elde edilen verilerin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.2.2. Renk değerleri

Renk, bir ürünün pazarlanabilirliğinde önemli rol oynayan dolayısıyla gıdaların en önemli kalite kriterlerinden biridir. Mikroenkapsülasyon tekniği ile aktif maddenin ve duyarlı bileşenlerin dış etkenlere (ısı, nem, hava ve ışık, pH, oksidasyon) karşı korunması, stabilitelerinin artırılması, kontrollü salınım özelliklerinin geliştirilmesi, son ürünün kullanılabilirliğinin kolaylaştırılmasının yanı sıra maddelerin istenmeyen tadının, kokusunun ve renginin maskelenmesi de sağlanmaktadır (Sarabi-Aghdam vd. 2021). Püskürterek kurutucu kullanılarak gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminde, tez kapsamında temin edilen ticari ellajik asitin nahoş renginin maskelenmesi sağlanmış ve mikrokapsüllerin rengine önemli ölçüde değişiklikler meydana gelmiştir. Çizelge 4.17 incelendiğinde mikrokapsüllerin Hunter L, a, b değerlerinin sırasıyla 66.12-65.03, 3.70-4.16 ve 18.45-19.35 aralığında değiştiği görülmektedir. Ticari ellajik asit tozlarının renk değerleri ise sırasıyla 62.53±0.21, 2.53±0.06, 11.14±0.17 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.17. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı L, a, b değerleri değişimi

Renk Parametreleri	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)			
		0	15	30	45
L	4°C	66.12±0.15	64.91±0.01	65.37±0.02	65.25±0.20
	25°C	66.12±0.15	65.03±0.15	65.14±0.29	64.81±0.40
a	4°C	3.70±0.01	4.20±0.02	4.07±0.02	4.12±0.06
	25°C	3.70±0.01	4.15±0.05	4.13±0.11	4.21±0.14
b	4°C	18.45±0.14	19.20±0.02	19.07±0.04	19.24±0.29
	25°C	18.45±0.14	19.43±0.09	19.29±0.23	19.46±0.32

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ve ticari olarak satın alınan ellajik asitin renk indeksleri ile mikrokapsüller arasında karşılaştırma yapıldığında Hunter L, a ve b değerinin ticari ellajik asit tozlarında daha düşük olduğu görülmektedir. Mikroenkapsülasyon işlemi sonrası mikrokapsüllerin nihai renginin, ham maddenin renginden, taşıyıcının çeşidinden ve konsantrasyonundan etkilendiği bilinmektedir ve elde edilen veriler değerlendirildiğinde meydana gelen renk değişiminin kullanılan taşıyıcı materyallerin renginden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen ellajik asit mikrokapsüllerinin L, a, b değerleri üzerine mikroenkapsülasyon işleminin, depolama süresinin ve depolama sıcaklığının etkisini gösteren varyans analizi sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde, L, a, b değerleri için depolama süresinin istatistiki açıdan önemli ölçüde ($p<0.01$) etkili olduğu görülmüştür. Ancak depolama sıcaklığı ve varyasyon kaynaklarının çeşitli interaksiyonlarının bu üç renk indeksi değerlerini istatistiksel açıdan etkilemediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.18. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak L, a, b değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	L değeri		a değeri		b değeri	
		KO	F	KO	F	KO	F
Sıcaklık	1	0.08	0.88	0.00	0.34	0.11	1.54
Süre	3	1.14	13.22**	0.20	20.44**	0.72	9.98**
Sıcaklık*	3	0.06	0.70	0.00	0.40	0.01	0.17
Süre	3	0.06	0.70	0.00	0.40	0.01	0.17
Hata	8	0.09		0.01		0.07	

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Püskürterek kurutma tekniği ile gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon işleminin, depolama sıcaklığının ve depolama süresinin ellajik asit mikrokapsüllerinin L*, a*, b* değerleri üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre üç renk değeri üzerine de depolama sıcaklığının istatistiksel açıdan önemi bir etkisinin olmadığı görülmüştür.(Çizelge 4.19) Depolama süresinin etkisi değerlendirildiğinde ise her üç renk indeksi için de ilk 15 günlük depolama periyodunun

istatistiki açıdan önemli düzeyde etkisi olduğu 15 gün ve üzeri depolama sürelerinin ise değerler üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak L, a, b değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

	Sıcaklık (°C)	4°C	25°C		
		0	15	30	45
L*	Depolama Süresi (gün)	66.12 ^a ±0.09	64.97 ^b ±0.07	65.25 ^b ±0.14	65.03 ^b ±0.22
	Sıcaklık (°C)	4°C	25°C		
		0	15	30	45
a*	Depolama Süresi (gün)	3.70 ^b ±0.01	4.17 ^a ±0.03	4.10 ^a ±0.05	4.16 ^a ±0.07
	Sıcaklık (°C)	4°C	25°C		
		0	15	30	45
b*	Depolama Süresi (gün)	18.45 ^b ±0.08	19.31 ^a ±0.08	19.18 ^a ±0.12	19.35 ^a ±0.19

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

4.2.3. Ellajik asit miktarı

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş ellajik asit mikrokapsüllerinin ellajik asit içeriklerine ait sonuçlar Çizelge 4.20’de, ellajik asit konsantrasyonları üzerinde, depolama süresinin ve depolama sıcaklığının etkisine ait varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.21’de verilmiştir. Mikrokapsüllerin EA konsantrasyonları kurumaddede 10.88 ve 12.77 g/100g aralığında değişmiştir. EA stabilitesinin araştırılması için EA mikrokapsülleri 4°C ve 25°C’de 45 gün boyunca depolanmış ve 15 günlük periyotlarda gerçekleştirilen analizlere göre EA mikrokapsüllerinin içermiş oldukları ellajik asit konsantrasyonlarında önemli düzeyde farklılıklar gözlemlenmemiştir (p>0.05).

Varyans analiz sonuçları incelendiğinde mikrokapsüllerde bulunan ellajik asit konsantrasyonu değerlerinin depolama süresine bağlı olarak önemli düzeyde (p<0.01) etkilendiği belirlenmiştir. Depolama sıcaklığı ile sıcaklık/süre interaksiyonunun ellajik asit konsantrasyonunu istatistiki açıdan önemli düzeyde etkilemediği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde bu durumun ellajik asidin kimyasal yapısına bağlı olarak termal stabilitesinin yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.20. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı ellajik asit miktarı değişimi (g/100g KM)

	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)			
		0	15	30	45
EA Miktarı	4 °C	12.77±0.35	12.64±0.15	11.67±0.64	11.35±0.04
	25 °C	12.77±0.35	12.28±0.34	11.60±0.16	10.40±0.15

Çizelge 4.21. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak ellajik asit miktarlarının (g/100g KM) ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.47144541	2.21
Süre	3	2.91375040	13.65**
Sıcaklık* Süre	3	0.18183061	0.85
Hata	8	0.21353129	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Gerçekleştirilen üretim ve depolama çalışmaları sonucunda ellajik asit açısından önemli düzeyde bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile (Çizelge 4.22) ortaya konulmuştur. Sonuçlara göre depolama sıcaklığındaki değişimin mikrokapsüllerde bulunan ellajik asit miktarını önemli düzeyde etkilemediği görülmektedir. Depolama süresi açısından incelendiğinde ise depolamanın 15. gününde mikrokapsüllerin ellajik asit miktarında önemli bir değişim olmazken, 30. ve 45. günlerindeki azalma düzeyi önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.22. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak ellajik asit miktarlarına (g/100g KM) ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık	4 °C	25 °C		
	12.11 ^a ±0.27	11.76 ^a ±0.35		
Depolama Süresi (Gün)	0	15	30	45
	12.77 ^a ±0.20	12.46 ^a ±0.18	11.64 ^b ±0.27	10.88 ^c ±0.28

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

4.2.4. Çözünürlük

Çözünürlük, kapsüllenen etken maddelerin çözgene sabit koşullar altında ve sürede ne seviyede geçiş yaptığının gösteren bir parametredir. Tez kapsamında püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen ellajik asit mikrokapsüllerinin kontrol numunelerine karşı (kapsülleme işlemi uygulanmamış örnek) depolama süresince çözünürlük özelliğinde meydana gelen değişimler test edilmiştir. (Çizelge 4.23) Depolama süresinin ve depolama sıcaklığının çözünürlük değerleri üzerindeki etkisini gösteren varyans analizi sonuçları Çizelge 4.24'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde iki farklı depolama sıcaklığında ve depolama süresinde mikrokapsüllerin çözünürlük oranları %7.11-10.77 arasında değişmiştir. Depolama süresi ve sıcaklığa bağlı değişimler ile varyasyon kaynaklarının ikili interaksiyonları ise önemli bulunmamıştır (p>0.05).

Çizelge 4.23. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı çözünürlük değerleri değişimi

Depolama Sıcaklığı		Depolama Süresi (Gün)			
		0	15	30	45
Çözünürlük (%)	4 °C	10.77±0.74	9.77±0.62	9.66±0.83	8.62±0.51
	25 °C	10.77±0.74	9.28±0.20	9.38±0.30	7.11±0.03

Çizelge 4.24. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak çözünürlük değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	1.27975506	0.94
Süre	3	3.73568783	2.76
Sıcaklık* Süre	3	0.42870290	0.32
Hata	8	1.35564245	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Gerçekleştirilen üretim ve depolama çalışmaları sonucunda ürünlerin çözünürlük değerleri açısından önemli düzeyde bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile (Çizelge 4.25) ortaya konulmuştur. Sonuçlarına göre mikrokapsüllerin çözünürlük değerlerinin depolama süresi ile azaldığı, aynı günü temsil eden örneklerin 25°C’de depolanan örneklerinin 4°C’de depolanan örneklerle kıyasla çözünürlük değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak iki farklı sıcaklıkta depolanan mikrokapsüllerin çözünürlük değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Depolama süresine bağlı olarak ise depolamanın 45. gününde analiz edilen örneklerin çözünürlük değerlerinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir.

Çizelge 4.25. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak çözünürlük değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık	4 °C	25 °C		
	9.54 ^a ±0.40	8.97 ^a ±0.50		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	10.11 ^a ±0.81	9.52 ^{ba} ±0.30	9.52 ^{ba} ±0.37	7.87 ^b ±0.48

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Nem içeriğinin artışına bağlı olarak kısmi kekleşme/topaklanma nedeniyle çözünürlüğün azalmış olabileceği değerlendirilmiştir. Nitekim literatürde benzer bir materyalin kapsüllenmesi üzerine yapılan bir çalışmada kekleşme/topaklanmaya bağlı çözünürlük kaybı rapor edilmiştir (Al-Asheh vd.2003)

4.2.5. Yığın yoğunluk ve sıkıştırılmış yoğunluk

Yığın yoğunluğu toz formdaki ürünlerin depolama, işleme, akış, paketleme nakliye özellikleri açısından önemli bir kriterdir. Bir ürünün yığın yoğunluğu partikül boyutu, şekli, yüzey özellikleri vb. faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Pürüzsüz ve tek tip toz, daha yüksek kütle yoğunluğuna sahip olup, bu durum toz boşlukları arasında daha düşük miktarda hava olduğunun göstergesidir (Goula ve Adamopoulos 2005).

Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilen ellajik asit mikrokapsüllerinin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri Çizelge 4.26'da, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yığın/sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin değişimini ifade eden varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28'de verilmiştir. Veriler incelendiğinde toz mikrokapsüllerin yığın yoğunluğu değerlerinin 0.49-0.53g/cm³, sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin ise 0.30-0.42 aralığında değiştiği ve yığın yoğunluğu değerlerinin depolama süresine bağlı olarak arttığı görülmektedir. Mikrokapsüllerin zamanla nem içeriğinin ve su aktivitesi değerlerinin artarak partiküllerin birbirine yapışması ile partiküllerin aralarında daha az hava boşlukları oluşmasına bağlı olarak mikrokapsüllerin yığın yoğunluğu değerlerinde artış meydana geldiği değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin depolama sıcaklığı ve sıcaklık süre etkileşiminden istatistiki açıdan önemli düzeyde etkilenmediği, depolama süresinden ise p<0.05 düzeyinde istatistiki açıdan etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.26. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluğu değerleri değişimi (g/cm³)

Depolama Sıcaklığı (°C)		Depolama Süresi (Gün)			
		0	15	30	45
YY	4 °C	0.49±0.01	0.50±0.00	0.51±0.02	0.53±0.00
	25 °C	0.49±0.01	0.49±0.00	0.52±0.01	0.51±0.01
SY	4 °C	0.40±0.00	0.37±0.00	0.39±0.01	0.42±0.00
	25 °C	0.40±0.00	0.39±0.01	0.40±0.01	0.40±0.00

YY: Yığın Yoğunluk

SY: Sıkıştırılmış Yoğunluk

Çizelge 4.27. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yığın yoğunluğu değerlerinin ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.00004081	0.34
Süre	3	0.00077863	6.42*
Sıcaklık* Süre	3	0.00010380	0.86
Hata	8	0.00012132	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Çizelge 4.28. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak sıkıştırılmış yoğunluğu değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.00000076	0.01
Süre	3	0.00060412	8.33*
Sıcaklık* Süre	3	0.00014275	1.97
Hata	8	0.00007252	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Depolama sıcaklığının ve depolama süresinin ellajik asit mikrokapsüllerinin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.29 ve Çizelge 4.30'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 4 °C ve 25 °C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta depolanan örnek gruplarının yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Depolama süresine bağlı olarak örneklerin yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri sırasıyla 0.49-0.52 ve 0.38-0.41 arasında değişim göstermiştir.

Çizelge 4.29. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yığın yoğunluğu değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık (°C)	4 °C	25 °C		
	0.51 ^a ±0.01	0.51 ^a ±0.01		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	0.50 ^b ±0.00	0.49 ^b ±0.00	0.52 ^a ±0.01	0.52 ^a ±0.01

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.30. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak sıkıştırılmış yoğunluğu değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık (°C)	4 °C	25 °C		
	0.40 ^a ±0.01	0.40 ^a ±0.00		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	0.40 ^{ba} ±0.00	0.38 ^c ±0.01	0.39 ^{bc} ±0.01	0.41 ^a ±0.01

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Kaderides vd. (2015) tarafından nar kabuğu fenoliklerin farklı taşıyıcı materyaller kullanılarak püskürterek kurutma tekniği ile enkapsülasyonunu konu alan bir çalışmada üretilen tozların yığın yoğunluğu değerlerinin 0.13 ve 0.74 g/cm³ aralığında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Püskürterek kurutma tekniği ile taşıyıcı materyal olarak maltodekstrin, arabik gam ve inülin kullanılarak ananas kabuğu ekstraktlarının mikrokapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı materyal tipinin ve kurutma sıcaklığının partikül özellikleri üzerindeki etkili olduğu ve ürünlerin yığın yoğunluğu değerlerinin 0,18 ila 0,30 g/cm³ arasında değiştiği rapor edilmiştir (Lourenço vd. 2020).

Gerçekleştirilen bir başka çalışmada püskürterek kurutma yöntemiyle modifiye nişasta/arabik gam ve peyniraltı suyu proteini konsantresi olmak üzere üç farklı taşıyıcı materyal kullanılarak keten tohumu yağının mikrokapsülasyonun gerçekleştirilmiştir. Çalışmada üretilen mikrokapsüllerin yığın yoğunluğu değerlerinin 351 ve 497 kg/m³ aralığında olduğunu belirtmişlerdir (Tontul ve Topuz 2013).

Literatürde toz formdaki ürünlerin yığın/sıkıştırılmış yoğunluk değerlerinin bileşen türü, üretim şartları ve kullanılan taşıyıcı miktarlarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmektedir. Bu kapsamda tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürle uyumlu olduğu değerlendirilmiştir.

4.2.6. Parçacık Boyutu

Optimum koşullarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin partikül boyutu sonuçları YAO, HAO, D₁₀, D₅₀, D₉₀ ve span değerleri olarak Çizelge 4.31’de, partikül boyut dağılımı ise Şekil 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.31. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin partikül boyutu (µm) analiz sonuçları

YAO	HAO	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	Span
5.57±0.06	26.24±0.81	4.81±0.07	19.77±0.01	48.28±0.51	2.44±0.02

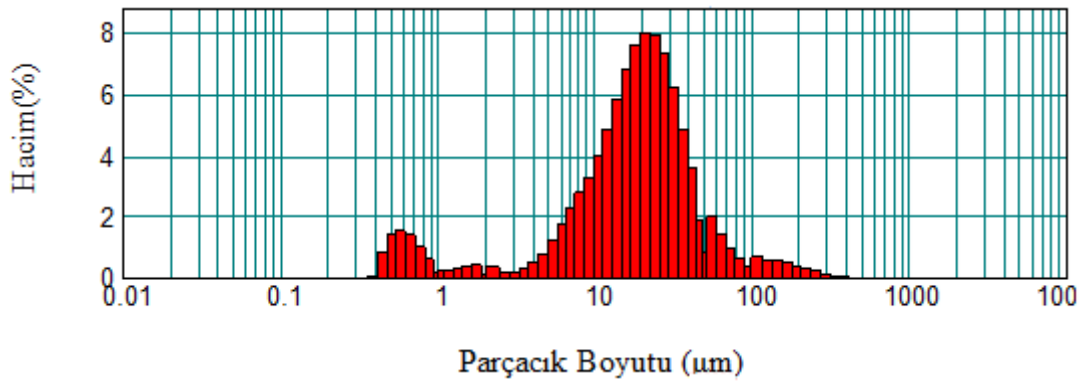
HAO: Hacim ağırlıklı ortalama

YAO: Yüzey ağırlıklı ortalama

D₁₀: Partiküllerin %10’u belirtilen değerden küçüktür

D₅₀: Partiküllerin %50’si belirtilen değerden küçüktür

D₉₀: Partiküllerin %90’ı belirtilen değerden küçüktür



Şekil 4.5. Optimum şartlarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin parçacık boyutu dağılımı

Literatürde yer alan bir çalışmada Açai posası (*Euterpe oleraceae* Mart.) kullanılmış ve püskürterek kurutma koşullarının açai tozunun fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Farklı sıcaklık ve oranlarda maltodekstrin kullanılarak üretilen tozların parçacık boyutunun 13.27 ile 21.35 µm değerleri arasında değiştiği rapor edilmiştir (Tonon vd. 2008)

Bustamante vd. (2017) yapmış oldukları çalışmada nar kabuğu ve nar çekirdeği yağının ekstraksiyonunu ve püskürterek kurutma yöntemi ile mikrokapsülasyonu gerçekleştirmişlerdir. Nar kabuğu ve nar çekirdeği yağı mikrokapsüllerinin yüzey ağırlıklı ortalamaları sırası ile 4.34 µm ve 4.67 µm olarak bulunmuştur. Toz ürünlerin partikül boyut dağılımının üretim şartlarına, kullanılan taşıyıcılara ve depolama şartlarına bağlı olarak doğrudan değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçların literatür ile uyumlu olduğu değerlendirilmiştir.

4.2.7. Antioksidan aktivite değişimi

DPPH radikal yakalama yöntemi, hidrojen ve elektron veren antioksidanların varlığında DPPH radikalinin indirgenmesine dayanır. Benzer şekilde antioksidanlar özellikteki bileşenler, gıdalardaki ve hücrelerdeki serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltıcı etki gösterebilmektedir (Bobinaitė vd. 2012). Ellajik asit de antioksidan özelliği olan bir bileşendir.

Tez çalışması kapsamında üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin antioksidan aktiviteleri DPPH radikali indirgeme yöntemiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiş ve sonuçlar depolama süresine bağlı olarak Çizelge 4.32’de, verilere ait varyans analizi ise Çizelge 4.33’te verilmiştir. Ellajik asit mikrokapsüllerinin antioksidan aktivite değerlerinin kurumadde de 2.50-3.04 g troluks eşdeğeri/100 g değerleri arasında değiştiği bulunmuştur. Varyans analizi sonuçları incelendiğinde mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri üzerinde, depolama sıcaklığı ($p<0.05$), depolama süresi ($p<0.01$) ve depolama sıcaklığı ile süresinin ikili interaksyonu ($p<0.05$) istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.32. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı antioksidan aktivite (g TEAA/100 g KM) değerleri

Depolama Sıcaklığı	Depolama Süresi (Gün)			
	0	15	30	45
4 °C	3.04±0.02	2.96±0.03	2.62±0.06	2.56±0.03
25 °C	3.04±0.02	2.71±0.01	2.61±0.06	2.50±0.02

Çizelge 4.33. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.02402500	10.39*
Süre	3	0.21118333	91.32**
Sıcaklık* Süre	3	0.01320833	5.71*
Hata	8	0.00231250	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Çizelge 4.34’te depolama sıcaklığının ve depolama süresinin ellajik asit mikrokapsüllerinin antioksidan aktivitesi değerleri üzerine etkisini incelemek amacıyla yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları verilmiştir. Sonuçlara göre yüksek depolama sıcaklığı ve uzun depolama süresine bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite değerlerinde önemli düzeyde (p<0.05) azalma meydana geldiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.34. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık (°C)	4 °C	25 °C		
	2.79 ^a ±0.08	2.71 ^b ±0.08		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	3.04 ^a ±0.01	2.84 ^b ±0.07	2.61 ^c ±0.03	2.53 ^d ±0.02

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

4.2.8. Toplam fenolik madde değişimi

Tez kapsamında elde edilen ellajik asit mikrokapsüllerinin toplam fenolik madde miktarları spektrofotometrik olarak analiz edilmiş ve analiz sonuçları Çizelge 4.35’te, sonuçlara ait varyans analiz tablosu ise Çizelge 4.36’da verilmiştir. Ellajik asit mikrokapsüllerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri kurumaddede 8.79-9.21 g/100 g değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre mikrokapsüllerin toplam fenolik madde değerleri üzerine depolama süresinin istatistiki açıdan (p<0.05) önemli ölçüde etkili olduğu, ancak depolama sıcaklığı ve varyasyon kaynaklarının çeşitli etkileşimlerinin toplam fenolik madde miktarı açısından önemli düzeyde etkilemediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.35. Püskürterek kurutma yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı toplam fenolik madde değişimi (g/100 g KM)

Depolama Sıcaklığı	Depolama Süresi (Gün)			
	0	15	30	45
4 °C	9.21±0.15	9.06±0.07	8.88±0.08	8.80±0.09
25 °C	9.21±0.15	8.93±0.25	8.81±0.00	8.79±0.06

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemli düzeydeki farklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 4.36. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak toplam fenolik madde değerlerinin ortalamalarına ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Sıcaklık	1	0.01062641	0.33
Süre	3	0.14115842	4.36*
Sıcaklık* Süre	3	0.00348867	0.11
Hata	8	0.03235010	

*p<0.05, **p<0.01 seviyesinde istatistiki açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Çizelge 4.37. Püskürterek kurutma yöntemi ile elde edilmiş optimum mikrokapsüllerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak toplam fenolik madde değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık (°C)	4 °C	25 °C		
	8.99 ^a ±0.07	8.94 ^a ±0.09		
Depolama Süresi (gün)	0	15	30	45
	9.21 ^a ±0.09	9.00 ^{ba} ±0.11	8.85 ^b ±0.04	8.79 ^b ±0.04

Örneklerin depolama şartlarına bağlı olarak toplam fenolik madde miktarındaki değişim açısından önemli bulunan farklılıklar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konulmuştur (Çizelge 4.37). Sonuçlara göre süreye bağlı olarak ilk 15 günde önemli bir değişiklik gözlenmezken, 15 günden sonra başlangıç seviyesine göre toplam fenolik bileşik miktarının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Depolama sıcaklığının ise toplam fenolik madde miktarı açısından önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir.

Çam vd. (2014) yapmış oldukları çalışma ile nar kabuğundaki fenolik bileşikleri püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle etmişler ve depolama kararlılığını değerlendirmişlerdir. Depolamanın ilk 15 gününde fenolik madde miktarının önemli ölçüde azaldığını ve bunun sebebinin oksidasyondan kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışma da ise Roopchand vd. (2013), kurutulmuş kıvılcık posası ekstraktındaki toplam polifenollerin, proantosiyonidinlerin ve antosiyoninlerin depolama sırasında sırasıyla %66, %49 ve %32 tespit etmişlerdir. Literatürde depolama süresine bağlı olarak toplam fenolik madde miktarının azaldığı çalışmalar göz önüne alındığında bu tez çalışmasının literatürle uyumlu olduğu değerlendirilmiştir.

5. SONUÇLAR

Ellajik asit ve ellajik asitin kalın bağırsak mikroflorası tarafından biyotransformasyonu ile oluşan ürolitinler çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olan başlıca antioksidan ve antiinflamatuvar özellikteki bileşenlerdir. Ellajik asitin sindirim ortamında çözünürlüğünün düşük olması kaynaklı olarak vücudumuzdaki emiliminin sınırlı düzeyde olduğu, ürolitinlere dönüşümü sonrasında ise biyoyararlılığının arttığı bilinmektedir. Ancak bağırsak mikroflorası tarafından ellajik asitin ürolitinlere dönüştürülebilmesi için de ortamda çözünmüş halde bulunması gerekmektedir. Temel olarak ellajik asitin düşük çözünürlüğü kaynaklı olan bu problemler nedeniyle sağlık açısından birçok olumlu etkisi olduğu bilinen ellajik asitten vücudumuzda yeterince fayda sağlanamamaktadır.

Gerçekleştirilen bu tez çalışması kapsamında ellajik asitin sudaki çözünürlüğünün geliştirilerek hem doğrudan vücuttaki emiliminin artırılması hem de bağırsak mikroflorası tarafından kullanılabilirliğinin artırılarak daha yüksek oranda ürolitinlere dönüştürülebilmesi, dolayısıyla biyoyararlılığının artırılması hedeflenmiştir. Ellajik asitin çözünürlüğünün artırılması amacıyla mikroenkapsülasyon tekniğinin uygulanabilirliği test edilmiş, mikroenkapsülasyon işlemi ise püskürterek kurutma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Ellajik asitin mikroenkapsülasyon amacıyla kullanılan püskürterek kurutma tekniğinde taşıyıcı materyal olarak maltodekstrin (DE 18), arabik gam ve prebiyotik aktiviteye sahip olan inülin kullanılmış, kullanılan taşıyıcıların oranı ve üretim şartları en yüksek çözünürlük ve son üründe en yüksek ellajik asit konsantrasyonu sağlayacak şekilde optimize edilmiştir. Elde edilen ürünler iki farklı sıcaklıkta (4°C ve 25°C) 45 gün süreyle depolanmış, depolama boyunca çeşitli fizikokimyasal özelliklerinin stabilitesi incelenmiştir. Bunun dışında üretilen mikrokapsüllerin bileşiminde bulunan ellajik asitin ürolitinlere dönüşümünün test edilebilmesi amacıyla model mide bağırsak sisteminde inkübasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- Ellajik asit mikrokapsüllerinin üretimi için en uygun püskürterek kurutma şartları 158°C giriş havası sıcaklığı ve taşıyıcı olarak kurutmaya alınan besleme çözeltisi miktarına göre %20 maltodekstrin ile %10 inülin kombinasyonunun olduğu belirlenmiştir.
- Optimum şartlarda üretilen ellajik asit mikrokapsüllerinin 12.77 g/100 g mikrokapsül düzeyinde ellajik asit içerdiği, depolama süresinin sonunda 4°C ve 25°C sıcaklıklarında depolanan mikrokapsüllerin ellajik asit içeriğinin sırasıyla 11.35 ve 10.4 g/100 g mikrokapsül düzeylerine kadar düşüş gösterdiği tespit edilmiştir.
- Mikroenkapsüllerin hazırlanmasında kullanılan ticari formdaki ellajik asitin sudaki çözünürlüğünün %0.50 olduğu belirlenmiş ve gerçekleştirilen mikroenkapsülasyon uygulamasıyla ellajik asitin çözünürlüğünün yaklaşık 20 kattan fazla artırılarak %10.77 seviyesine yükseltilebildiği belirlenmiştir.
- Ticari formdaki ellajik asit ve optimum şartlarda üretilen ellajik asit mikrokapsülleri kullanılarak model mide bağırsak (*in vitro*) sisteminde gerçekleştirilen salınım testlerinde, mikrokapsüle edilmiş ellajik asitin yaklaşık 2 kat daha fazla salınım gösterdiği tespit edilmiştir.

- *Bifidobacterium pseudocatenulatum* suşu kullanılarak ellajik asitin ürolitinlere dönüşümünün test edildiği inkübasyon denemelerinde mikroenkapsüle edilmiş ellajik asitten ticari formdaki ellajik asite kıyasla mikrobiyal yükten (5, 6 ve 7 log) ve inkübasyon süresinden (6, 12, 24 ve 48 saat) bağımsız olarak daha fazla ürolitin A ve ürolitin B dönüşümünün gerçekleştiği belirlenmiştir.

Tez çalışmasından elde edilen bulgular doğrultusunda bir gıda endüstrisi atığı olan nar kabuğunun hayvansal yem olarak kullanılmadan önce içerisindeki fonksiyonel bileşenlerin özütlenerek katma değerli fonksiyonel bir ürüne dönüştürülebileceği görülmüştür. Özellikle ellajik asitin sudaki çözünürlüğü artırılarak spesifik bir probiyotik mikroorganizma desteği ile biyoyararlanımının artırılabilmesi ve biyoaktivitesi daha yüksek ticari bir ürüne dönüştürülebilme potansiyeli olduğu görülmüştür. Ayrıca çalışma kapsamında ellajik asitin biyoyararlılığı daha yüksek olan ürolitinlere en yüksek konsantrasyonda dönüştürülebilmesi için 24 saat inkübasyon süresine ihtiyaç olduğu görülmüştür. Bunlara ek olarak insan vücudunda hedeflenen bölgeye ulaşan ellajik asit miktarı konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunduğu göz önüne alınarak elde edilen bulguların ilgili araştırmacıların dikkatini çekebileceği ve multidisipliner çalışmalara katkı sağlanabileceği değerlendirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Adamiec, J. 2009. Moisture sorption characteristics of peppermint oil microencapsulated by spray drying. *Drying technology*, 27 (12): 1363-1369.
- Adams, L.S., Zhang, Y., Seeram, N.P., Heber, D. and Chen, S. 2010. Pomegranate ellagitannin-derived compounds exhibit antiproliferative and antiaromatase activity in breast cancer cells in vitro. *Cancer Prevention Research*, 3 (1): 108-113.
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternale, D. and Sestili, P. 2015. Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food chemistry*, 174: 417-425.
- Alfei, S., Marengo, B. and Zuccari, G. 2020. Oxidative stress, antioxidant capabilities, and bioavailability: Ellagic acid or urolithins? *Antioxidants*, 9 (8): 707.
- Alfei, S., Turrini, F., Catena, S., Zunin, P., Parodi, B., Zuccari, G., Pittaluga, A.M. and Boggia, R. 2019. Preparation of ellagic acid micro and nano formulations with amazingly increased water solubility by its entrapment in pectin or non-pamam dendrimers suitable for clinical applications. *New Journal of Chemistry*, 43 (6): 2438-2448.
- Álvarez-Cervantes, P., Cancino-Díaz, J.C., Fabela-Illescas, H.C.E., Cariño-Cortés, R., López-Villegas, E.O., Ariza-Ortega, J.A., Belefant-Miller, H. and Betanzos-Cabrera, G. 2021. Spray-drying microencapsulation of pomegranate juice increases its antioxidant activity after in vitro digestion. *International journal of food science & technology*, 56 (10): 5089-5096.
- Amyrgialaki, E., Makris, D.P., Mauromoustakos, A. and Kefalas, P. 2014. Optimisation of the extraction of pomegranate (*punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 59: 216-222.
- Ascacio-Valdés, J., Burboa, E., Aguilera-Carbo, A.F., Aparicio, M., Pérez-Schmidt, R., Rodríguez, R. and Aguilar, C.N. 2013. Antifungal ellagitannin isolated from *euphorbia antisiphilitica* zucc. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (1): 41-46.
- Aslan, A., Gok, O., Erman, O. and Kuloglu, T. 2018. Ellagic acid impedes carbontetrachloride-induced liver damage in rats through suppression of nf-kb, bcl-2 and regulating nrf-2 and caspase pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105: 662-669.
- Bala, I., Bhardwaj, V., Hariharan, S., Sitterberg, J., Bakowsky, U. and Kumar, M.R. 2005. Design of biodegradable nanoparticles: A novel approach to encapsulating poorly soluble phytochemical ellagic acid. *Nanotechnology*, 16 (12): 2819.
- Baradaran Rahimi, V., Ghadiri, M., Ramezani, M. and Askari, V.R. 2020. Antiinflammatory and anti-cancer activities of pomegranate and its constituent, ellagic acid: Evidence from cellular, animal, and clinical studies. *Phytotherapy Research*, 34 (4): 685-720.
- Baranauskaite, J., Kopustinskiene, D.M. and Bernatoniene, J. 2019. Impact of gelatin supplemented with gum arabic, tween 20, and β -cyclodextrin on the microencapsulation of turkish oregano extract. *Molecules*, 24 (1): 176.
- Bashir, S., Gilani, S.A., Khan, A.A., Ullah, S. and Jahangir, M.A. 2020. Preparation of chicken nuggets using pomegranate blended sunflower oil. *Asian Journal of Allied Health Sciences (AJAHS)*: 3-10.

- Bicudo, M.O.P., Jó, J., Oliveira, G.a.D., Chaimsohn, F.P., Sierakowski, M.R., Freitas, R.a.D. and Ribani, R.H. 2015. Microencapsulation of juçara (*euterpe edulis* m.) pulp by spray drying using different carriers and drying temperatures. *Drying technology*, 33 (2): 153-161.
- Bobinaite, R., Viškelis, P. and Venskutonis, P.R. 2012. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*rubus* spp.) cultivars. *Food chemistry*, 132 (3): 1495-1501.
- Bravo, D., Peirotén, Á., Álvarez, I. and Landete, J.M. 2017. Phytoestrogen metabolism by lactic acid bacteria: Enterolignan production by *lactobacillus salivarius* and *lactobacillus gasseri* strains. *Journal of Functional Foods*, 37: 373-378.
- Bustamante, A., Hinojosa, A., Robert, P. and Escalona, V. 2017. Extraction and microencapsulation of bioactive compounds from pomegranate (*punica granatum* var. Wonderful) residues. *International journal of food science & technology*, 52 (6): 1452-1462.
- Castel, V., Rubiolo, A.C. and Carrara, C.R. 2018. Brea gum as wall material in the microencapsulation of corn oil by spray drying: Effect of inulin addition. *Food Research International*, 103: 76-83.
- Cerdá, B., Periago, P., Espín, J.C. and Tomás-Barberán, F.A. 2005a. Identification of urolithin a as a metabolite produced by human colon microflora from ellagic acid and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (14): 5571-5576.
- Cerdá, B., Tomás-Barberán, F.A. and Espín, J.C. 2005b. Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts, and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2): 227-235.
- Choudhury, N., Meghwal, M. and Das, K. 2021. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2 (4): 426-442.
- Clifford, M.N. and Scalbert, A. 2000. Ellagitannins—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7): 1118-1125.
- Corrêa-Filho, L.C., Lourenço, S.C., Duarte, D.F., Moldão-Martins, M. and Alves, V.D. 2019. Microencapsulation of tomato (*solanum lycopersicum* l.) pomace ethanolic extract by spray drying: Optimization of process conditions. *Applied Sciences*, 9 (3): 612.
- Çam, M., İçyer, N.C. and Erdoğan, F. 2014. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55 (1): 117-123.
- D'amico, D., Andreux, P.A., Valdés, P., Singh, A., Rinsch, C. and Auwerx, J. 2021. Impact of the natural compound urolithin a on health, disease, and aging. *Trends in molecular medicine*, 27 (7): 687-699.
- Daniel, E.M., Krupnick, A.S., Heur, Y.-H., Blinzler, J.A., Nims, R.W. and Stoner, G.D. 1989. Extraction, stability, and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. *Journal of food composition and Analysis*, 2 (4): 338-349.
- De Liz, G.R., Verruck, S., Canella, M.H.M., Dantas, A., Garcia, S.G., Maran, B.M., Murakami, F.S. and Prudencio, E.S. 2020. Stability of bifidobacteria entrapped in goat's whey freeze concentrate and inulin as wall materials and powder properties. *Food Research International*, 127: 108752.

- Derosa, G., Maffioli, P. and Sahebkar, A. 2016. Ellagic acid and its role in chronic diseases. *Anti-Inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*: 473-479.
- Desai, K.G.H. and Jin Park, H. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23 (7): 1361-1394.
- Dhingra, D. and Jangra, A. 2014. Antiepileptic activity of ellagic acid, a naturally occurring polyphenolic compound, in mice. *Journal of Functional Foods*, 10: 364-369.
- Ding, C., Bi, H., Wang, D., Kang, M., Tian, Z., Zhang, Y., Wang, H., Zhu, T. and Ma, J. 2019. Preparation of chitosan/alginate-ellagic acid sustained-release microspheres and their inhibition of preadipocyte adipogenic differentiation. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 20 (14): 1213-1222.
- Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B. and Nedović, V. 2015. Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7 (4): 452-490.
- Edris, A.E., Kalemba, D., Adamiec, J. and Piątkowski, M. 2016. Microencapsulation of nigella sativa oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. *Food chemistry*, 204: 326-333.
- Endo, E.H., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C.V. and Filho, B.P.D. 2012. Activity of spray-dried microparticles containing pomegranate peel extract against candida albicans. *Molecules*, 17 (9): 10094-10107.
- Ersöz, E. 2019. Nar kabuğu ekstraktının soya İçeceği katkılı yoğurtlarda kullanılabilirliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 77 s.
- Espín, J.C., Larrosa, M., García-Conesa, M.T. and Tomás-Barberán, F. 2013. Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: The evidence so far. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013: 2745.
- Fang, Z. and Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21 (10): 510-523.
- Fellows, P.J. 2009. Food processing technology: Principles and practice. Elsevier, s.
- Fischer, U.A., Carle, R. and Kammerer, D.R. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (punica granatum l.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by hplc-dad-esi/msn. *Food chemistry*, 127 (2): 807-821.
- Fotie, J. 2010. The potential of ellagic acid as a possible antimalarial drug candidate. *Current Bioactive Compounds*, 6 (3): 161-177.
- Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H. and Hirai, Y. 2004. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against helicobacter pylori. *Microbiology and immunology*, 48 (4): 251-261.
- García-Villalba, R., Espín, J.C. and Tomás-Barberán, F.A. 2016. Chromatographic and spectroscopic characterization of urolithins for their determination in biological samples after the intake of foods containing ellagitannins and ellagic acid. *Journal of Chromatography A*, 1428: 162-175.

- Gaya, P., Peirotén, Á., Medina, M., Álvarez, I. and Landete, J.M. 2018. Bifidobacterium pseudocatenulatum inia p815: The first bacterium able to produce urolithins a and b from ellagic acid. *Journal of Functional Foods*, 45: 95-99.
- Gonzalez-Barrio, R., Truchado, P., Ito, H., Espin, J.C. and Tomas-Barberan, F.A. 2011. Uv and ms identification of urolithins and nasutins, the bioavailable metabolites of ellagitannins and ellagic acid in different mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (4): 1152-1162.
- González-Sarrias, A., García-Villalba, R., Núñez-Sánchez, M.Á., Tomé-Carneiro, J., Zafrilla, P., Mulero, J., Tomás-Barberán, F.A. and Espín, J.C. 2015. Identifying the limits for ellagic acid bioavailability: A crossover pharmacokinetic study in healthy volunteers after consumption of pomegranate extracts. *Journal of Functional Foods*, 19: 225-235.
- González, E., Gómez-Caravaca, A.M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Martínez-Férez, A., Segura-Carretero, A. and Robert, P. 2019. Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during in vitro gastrointestinal digestion. *Food chemistry*, 279: 40-48.
- Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G. 2005. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *Journal of Food Engineering*, 66 (1): 35-42.
- Goula, A.M. and Lazarides, H.N. 2015. Integrated processes can turn industrial food waste into valuable food by-products and/or ingredients: The cases of olive mill and pomegranate wastes. *Journal of Food Engineering*, 167: 45-50.
- Hashemiravan, M., Mazloom, A. and Farhadyar, N. 2013. Nano particles of blueberry in inulin and b-cyclodextrin microencapsules. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9 (4): 185-192.
- Hmid, I., Hanine, H., Elothmani, D. and Oukabli, A. 2018. The physico-chemical characteristics of morrocan pomegranate and evaluation of the antioxidant activity for their juices. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17 (3): 302-309.
- Jacob, J., Rajiv, P., Gopalan, R. and Lakshmanaperumalsamy, P. 2019. An overview of phytochemical and pharmacological potentials of punica granatum l. *Pharmacognosy Journal*, 11 (5):
- Jeong, Y.-I., Yŏ, R.P., Ohno, T., Yoshikawa, Y., Shibata, N., Kato, S., Takeuchi, K. and Takada, K. 2001. Application of eudragit p-4135f for the delivery of ellagic acid to the rat lower small intestine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53 (8): 1079-1085.
- Jha, A.B., Panchal, S.S. and Shah, A. 2018. Ellagic acid: Insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 175: 33-46.
- Jing, T., Liao, J., Shen, K., Chen, X., Xu, Z., Tian, W., Wang, Y., Jin, B. and Pan, H. 2019. Protective effect of urolithin a on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice via modulation of inflammation and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 129: 108-114.
- Kaderides, K., Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G. 2015. A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative food science & emerging technologies*, 31: 204-215.

- Kaderides, K., Kyriakoudi, A., Mourtzinou, I. and Goula, A.M. 2021. Potential of pomegranate peel extract as a natural additive in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 115: 380-390.
- Kaderides, K., Mourtzinou, I. and Goula, A.M. 2020. Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. *Food chemistry*, 310: 125849.
- Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International journal of food science & technology*, 45 (2): 216-222.
- Kandylis, P. and Kokkinomagoulos, E. 2020. Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives. *Foods*, 9 (2): 122.
- Kayaalp, S., Kanık, İ., Melli, M., Oktay, Ş., Özbek, H. and Aydınkarahaloğlu, D. 2001. Klinik farmakolojinin esasları ve temel düzenlemeler. Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık, Ankara, 1072 s.
- Kerimi, A., Nyambe-Silavwe, H., Gauer, J.S., Tomás-Barberán, F.A. and Williamson, G. 2017. Pomegranate juice, but not an extract, confers a lower glycemic response on a high-glycemic index food: Randomized, crossover, controlled trials in healthy subjects. *The American journal of clinical nutrition*, 106 (6): 1384-1393.
- Keshani, S., Daud, W.R.W., Nourouzi, M., Namvar, F. and Ghasemi, M. 2015. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. *Journal of Food Engineering*, 146: 152-162.
- Khanbabaee, K. and Van Ree, T. 2001. Tannins: Classification and definition. *Natural product reports*, 18 (6): 641-649.
- Ko, K., Dadmohammadi, Y. and Abbaspourrad, A. 2021. Nutritional and bioactive components of pomegranate waste used in food and cosmetic applications: A review. *Foods*, 10 (3): 657.
- Landete, J.M. 2011. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*, 44 (5): 1150-1160.
- Larrosa, M., Tomás-Barberán, F.A. and Espín, J.C. 2006. The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17 (9): 611-625.
- Lee, G., Park, J.-S., Lee, E.-J., Ahn, J.-H. and Kim, H.-S. 2019. Anti-inflammatory and antioxidant mechanisms of urolithin b in activated microglia. *Phytomedicine*, 55: 50-57.
- Lee, J.-H., Johnson, J.V. and Talcott, S.T. 2005. Identification of ellagic acid conjugates and other polyphenolics in muscadine grapes by hplc-esi-ms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (15): 6003-6010.
- Lei, F., Xing, D.-M., Xiang, L., Zhao, Y.-N., Wang, W., Zhang, L.-J. and Du, L.-J. 2003. Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract. *Journal of Chromatography B*, 796 (1): 189-194.
- Li, B., Harich, K., Wegiel, L., Taylor, L.S. and Edgar, K.J. 2013. Stability and solubility enhancement of ellagic acid in cellulose ester solid dispersions. *Carbohydrate Polymers*, 92 (2): 1443-1450.
- Li, Y., Zhao, X., Zu, Y., Zhang, Y., Ge, Y., Zhong, C. and Wu, W. 2015. Preparation and characterization of micronized ellagic acid using antisolvent precipitation for oral delivery. *International journal of pharmaceutics*, 486 (1-2): 207-216.

- Liu, W., Chen, X.D., Cheng, Z. and Selomulya, C. 2016. On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 169: 189-195.
- Losso, J.N., Bansode, R.R., Trappey Ii, A., Bawadi, H.A. and Truax, R. 2004. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15 (11): 672-678.
- Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M. and Alves, V.D. 2020. Microencapsulation of pineapple peel extract by spray drying using maltodextrin, inulin, and arabic gum as wall matrices. *Foods*, 9 (6): 718.
- Luján-Medina, G.A., Ventura, J., Ascacio-Valdés, J.A., Cerqueira, M., Villa, D.B., Contreras-Esquivel, J.C., González, M.a.A., Vicente, A. and Aguilar, C.N. 2015. Microencapsulation of ellagic acid from pomegranate husk and karaya gum by spray drying. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7 (1): 212-216.
- Maleki, O., Khaledabad, M.A., Amiri, S., Asl, A.K. and Makouie, S. 2020. Microencapsulation of lactobacillus rhamnosus atcc 7469 in whey protein isolate-crystalline nanocellulose-inulin composite enhanced gastrointestinal survivability. *Lwt*, 126: 109224.
- Mcclements, D.J. 2017. Recent progress in hydrogel delivery systems for improving nutraceutical bioavailability. *Food Hydrocolloids*, 68: 238-245.
- Melgarejo-Sánchez, P., Nunez-Gomez, D., Martínez-Nicolás, J.J., Hernández, F., Legua, P. and Melgarejo, P. 2021. Pomegranate variety and pomegranate plant part, relevance from bioactive point of view: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 8 (1): 1-29.
- Murugesan, R. and Orsat, V. 2012. Spray drying for the production of nutraceutical ingredients—a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (1): 3-14.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1: 1806-1815.
- Pang, S.F., Yusoff, M.M. and Gimbut, J. 2014. Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of orthosiphon stamineus extracts. *Food Hydrocolloids*, 37: 159-165.
- Pattnaik, M., Pandey, P., Martin, G.J., Mishra, H.N. and Ashokkumar, M. 2021. Innovative technologies for extraction and microencapsulation of bioactives from plant-based food waste and their applications in functional food development. *Foods*, 10 (2): 279.
- Pieczkolan, E. and Kurek, M.A. 2019. Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129: 665-671.
- Quideau, S. and Feldman, K.S. 1996. Ellagitannin chemistry. *Chemical Reviews*, 96 (1): 475-504.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N.M., Yusof, Y.A. and Muhammad, K. 2018. Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, 328: 406-414.
- Righi Da Rosa, J., Cezimbra Weis, G.C., Bolson Moro, K.I., Sasso Robalo, S., Elias Assmann, C., Picolli Da Silva, L., Irineu Muller, E., De Bona Da Silva, C., Ragagnin De Menezes, C. and Severo Da Rosa, C. 2021. Effect of wall materials

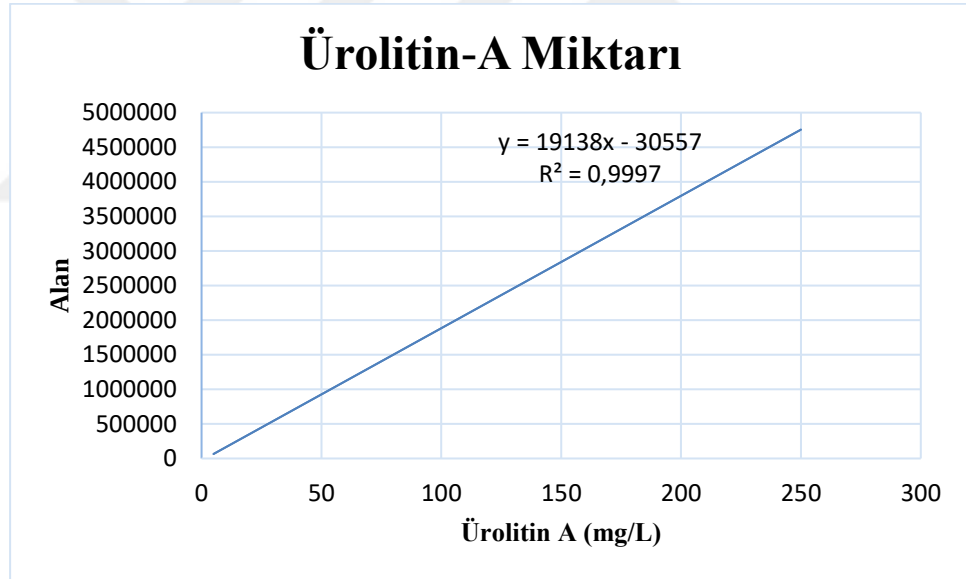
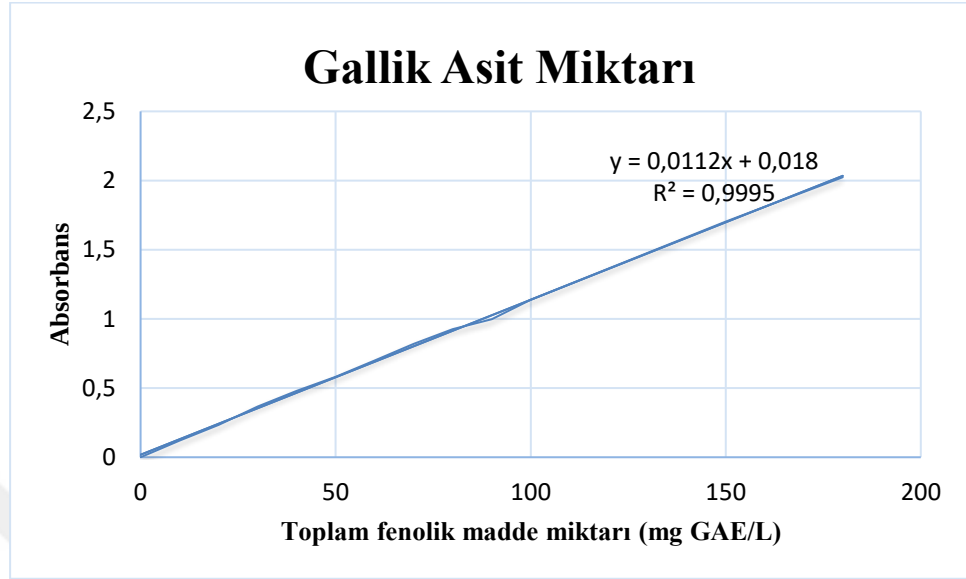
- and storage temperature on anthocyanin stability of microencapsulated blueberry extract. *Lwt*, 142: 111027.
- Ruan, J., Yang, Y., Yang, F., Wan, K., Fan, D. and Wang, D. 2018. Novel oral administrated ellagic acid nanoparticles for enhancing oral bioavailability and anti-inflammatory efficacy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 46: 215-222.
- Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S.R., Shaddel, R. and Akbari-Alavijeh, S. 2021. Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108: 297-325.
- Samtlebe, M., Ergin, F., Wagner, N., Neve, H., Küçükçetin, A., Franz, C.M., Heller, K.J., Hinrichs, J. and Atamer, Z. 2016. Carrier systems for bacteriophages to supplement food systems: Encapsulation and controlled release to modulate the human gut microbiota. *LWT-Food Science and Technology*, 68: 334-340.
- Sandhya, S., Khamrui, K., Prasad, W. and Kumar, M. 2018. Preparation of pomegranate peel extract powder and evaluation of its effect on functional properties and shelf life of curd. *Lwt*, 92: 416-421.
- Sarabi-Aghdam, V., Mousavi, M., Hamishehkar, H., Kiani, H., Emam-Djomeh, Z., Mirarab Razi, S. and Rashidinejad, A. 2021. Utilization of chickpea protein isolate and persian gum for microencapsulation of licorice root extract towards its incorporation into functional foods. *Food chemistry*, 362: 130040.
- Savi, M., Bocchi, L., Mena, P., Dall'asta, M., Crozier, A., Brighenti, F., Stilli, D. and Del Rio, D. 2017. In vivo administration of urolithin a and b prevents the occurrence of cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovascular diabetology*, 16 (1): 1-13.
- Savic, I.M., Jovic, E., Nikolic, V.D., Popsavin, M.M., Rakic, S.J. and Savic-Gajic, I.M. 2019. The effect of complexation with cyclodextrins on the antioxidant and antimicrobial activity of ellagic acid. *Pharmaceutical development and technology*, 24 (4): 410-418.
- Šavikin, K., Nastić, N., Janković, T., Bigović, D., Miličević, B., Vidović, S., Menković, N. and Vladić, J. 2021. Effect of type and concentration of carrier material on the encapsulation of pomegranate peel using spray drying method. *Foods*, 10 (9): 1968.
- Seeram, N.P., Adams, L.S., Henning, S.M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G. and Heber, D. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16 (6): 360-367.
- Seeram, N.P., Henning, S.M., Zhang, Y., Suchard, M., Li, Z. and Heber, D. 2006. Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *The Journal of nutrition*, 136 (10): 2481-2485.
- Shahidi, F. and Han, X.Q. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33 (6): 501-547.
- Shahidi Noghabi, M. and Molaveisi, M. 2020. Microencapsulation optimization of cinnamon essential oil in the matrices of gum arabic, maltodextrin, and inulin by spray-drying using mixture design. *Journal of Food Process Engineering*, 43 (2): e13341.

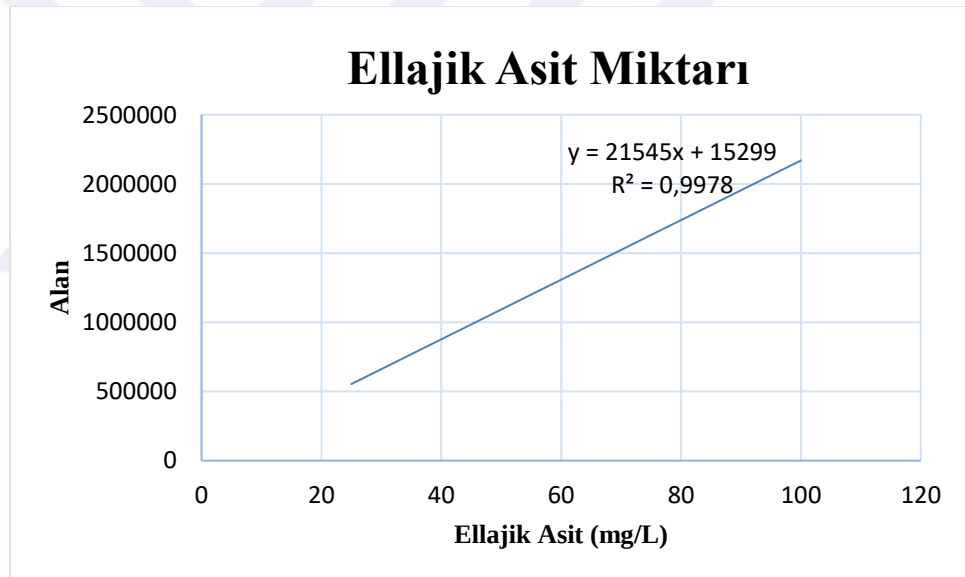
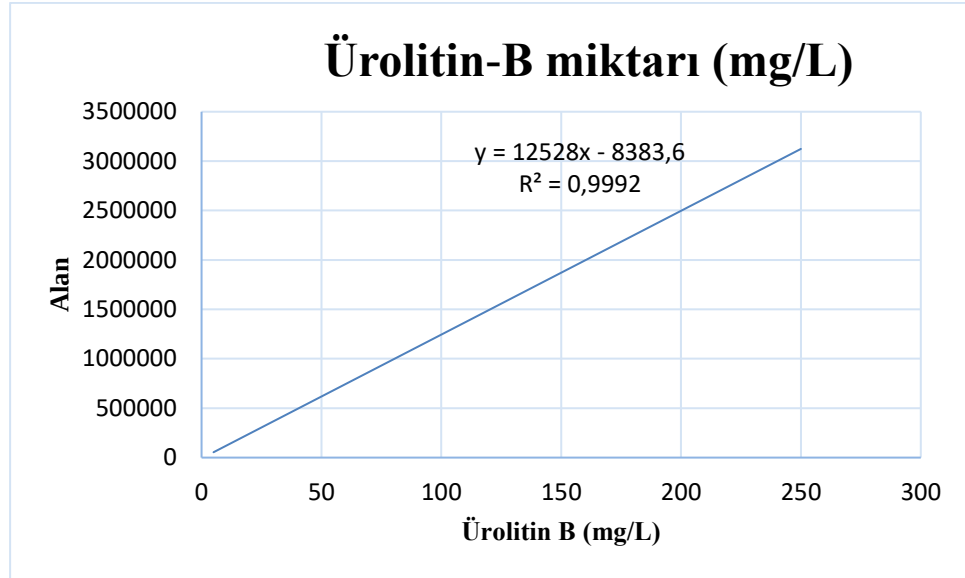
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Castillo, C.M.S., Caroca, R., Lazo-Vélez, M.A., Antonyak, H., Polishchuk, A., Lysiuk, R., Oliinyk, P. and De Masi, L. 2022. Ellagic acid: A review on its natural sources, chemical stability, and therapeutic potential. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022:
- Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A. and Singh, N. 2018. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*punica granatum* l.) peel: A review. *Food chemistry*, 261: 75-86.
- Singh, R., Chandrashekharappa, S., Bodduluri, S.R., Baby, B.V., Hegde, B., Kotla, N.G., Hiwale, A.A., Saiyed, T., Patel, P. and Vijay-Kumar, M. 2019. Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the nrf2 pathway. *Nature communications*, 10 (1): 1-18.
- Stojiljkovic, N., Ilic, S., Jakovljevic, V., Stojanovic, N., Stojnev, S., Kocic, H., Stojanovic, M. and Kocic, G. 2018. The encapsulation of lycopene in nanoliposomes enhances its protective potential in methotrexate-induced kidney injury model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018:
- Stojiljković, N., Ilić, S., Stojanović, N., Janković-Veličković, L., Stojnev, S., Kocić, G., Radenković, G., Arsić, I., Stojanović, M. and Petković, M. 2019. Nanoliposome-encapsulated ellagic acid prevents cyclophosphamide-induced rat liver damage. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 458 (1): 185-195.
- Tomás-Barberán, F.A., González-Sarriás, A., García-Villalba, R., Núñez-Sánchez, M.A., Selma, M.V., García-Conesa, M.T. and Espín, J.C. 2017. Urolithins, the rescue of “old” metabolites to understand a “new” concept: Metabotypes as a nexus among phenolic metabolism, microbiota dysbiosis, and host health status. *Molecular nutrition & food research*, 61 (1): 1500901.
- Tonon, R.V., Brabet, C. and Hubinger, M.D. 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*euterpe oleraceae* mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88 (3): 411-418.
- Tontul, I. and Topuz, A. 2013. Mixture design approach in wall material selection and evaluation of ultrasonic emulsification in flaxseed oil microencapsulation. *Drying technology*, 31 (12): 1362-1373.
- Vattem, D. and Shetty, K. 2005. Biological functionality of ellagic acid: A review. *Journal of food biochemistry*, 29 (3): 234-266.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J. 2010. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9 (6): 635-654.
- Wandrey, C., Bartkowiak, A. and Harding, S.E. 2010. Materials for encapsulation. In: *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, Springer, pp. 31-100.
- Wang, S.-T., Chou, C.-T. and Su, N.-W. 2017. A food-grade self-nanoemulsifying delivery system for enhancing oral bioavailability of ellagic acid. *Journal of Functional Foods*, 34: 207-215.
- Wu, S. and Tian, L. 2017. Diverse phytochemicals and bioactivities in the ancient fruit and modern functional food pomegranate (*punica granatum*). *Molecules*, 22 (10): 1606.
- Yağmur, N. and Şahin, S. 2020. Encapsulation of ellagic acid from pomegranate peels in microalgae optimized by response surface methodology and an investigation of its controlled released under simulated gastrointestinal studies. *Journal of food science*, 85 (4): 998-1006.

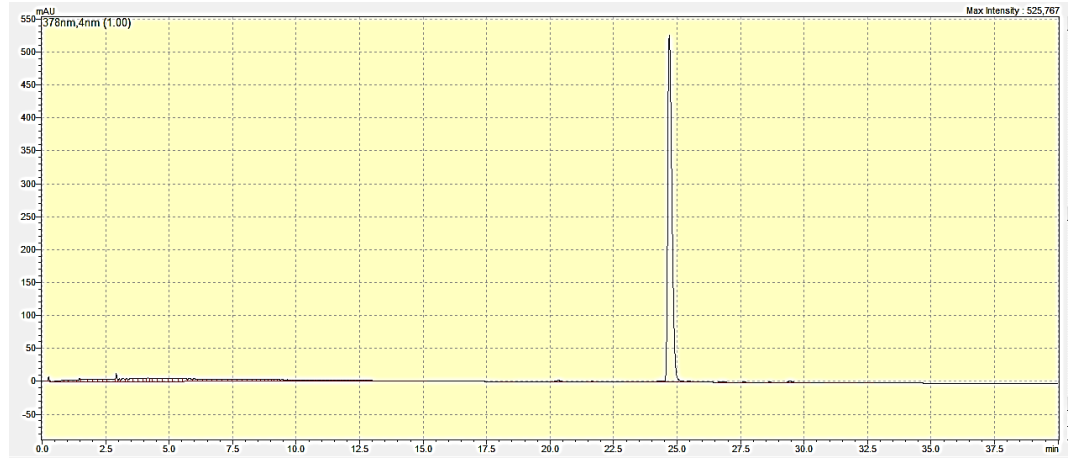
- Yanniotis, S., Taoukis, P., Stoforos, N.G. and Karathanos, V.T. 2013. Advances in food process engineering research and applications. Springer, s.
- Yekdane, N. and Goli, S.a.H. 2019. Effect of pomegranate juice on characteristics and oxidative stability of microencapsulated pomegranate seed oil using spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 12 (9): 1614-1625.
- Zhang, H.-M., Zhao, L., Li, H., Xu, H., Chen, W.-W. and Tao, L. 2014. Research progress on the anticarcinogenic actions and mechanisms of ellagic acid. *Cancer biology & medicine*, 11 (2): 92.
- Zhao, W., Shi, F., Guo, Z., Zhao, J., Song, X. and Yang, H. 2018. Metabolite of ellagitannins, urolithin a induces autophagy and inhibits metastasis in human sw620 colorectal cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, 57 (2): 193-200.
- Zuccari, G., Baldassari, S., Ailuno, G., Turrini, F., Alfei, S. and Caviglioli, G. 2020. Formulation strategies to improve oral bioavailability of ellagic acid. *Applied Sciences*, 10 (10): 3353.
- Zuidam, N.J. and Shimon, 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, Springer, pp. 3-29.

7. EKLER

EK- 1 Tez kapsamındaki analizlerde kullanılan standart eğrileri



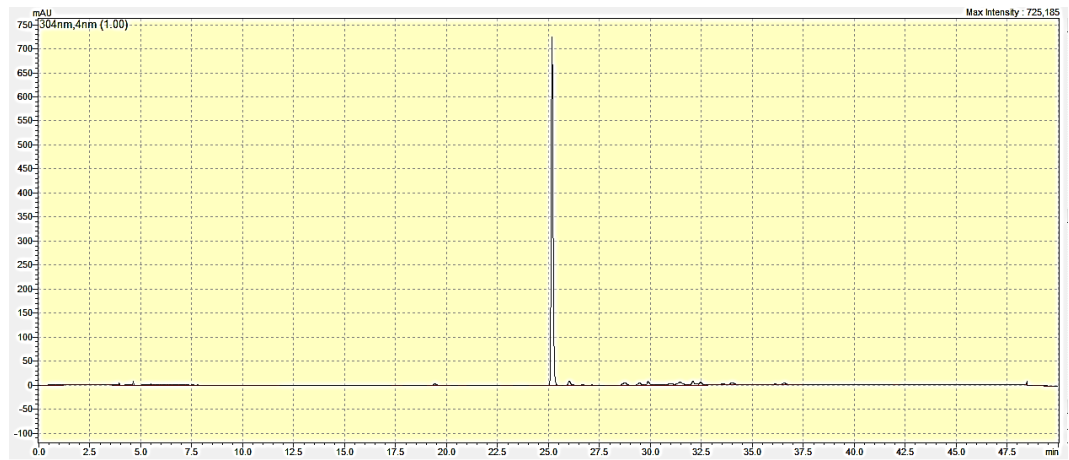




EK- 2 Tez Kapsamında kullanılan ellajik asit standardına ait kromatogram (378 nm)



EK- 3 Tez kapsamında kullanılan ürolitin-A ve ürolitin-B standartlarına ait kromatogram (305 nm)



EK- 4 Tez kapsamında kullanılan ürolitin-A standartına ait kromatogram (304 nm)



EK- 5 Tez kapsamında kullanılan ürolitin-B standartına ait kromatogram (332nm)

ÖZGEÇMİŞ

Nida PINARBAŞI

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2020-devam ediyor	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2014-2019	Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

AR-GE Mühendisi 2020-Devam Ediyor	MEYKON Meyve ve Kaynak Suları San. ve Tic.A.Ş.
--------------------------------------	---