



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**BİYOATIKLARDAN BİYOAKTİF MADDELERİN MİKROENKAPSÜLASYONU
VE ÇEŞİTLİ GIDALARDAKİ SALIM DAVRANIŞLARI**

İrem TOPRAKÇI YÜKSEL

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Doktora Programı

Haziran, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

İrem TOPRAKÇI YÜKSEL tarafından, **Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ** danışmanlığında hazırlanan **"BİYOATIKLARDAN BİYOAKTİF MADDELERİN MİKROENKAPSÜLASYONU VE ÇEŞİTLİ GIDALARDAKİ SALIM DAVRANIŞLARI"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **10/06/2024** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

DANIŞMAN	Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ	☒
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	☐
ÜYE	Prof. Dr. Mehmet BİLGİN	☐
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	☐
ÜYE	Doç. Dr. Nil ACARALI	☒
	Yıldız Teknik Üniversitesi	Kabul
	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	☐
ÜYE	Prof. Dr. Elif ÇALIŞKAN SALİHİ	☒
	Marmara Üniversitesi	Kabul
	Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı	☐
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Ebru KURTULBAŞ ŞAHİN	☒
	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	Kabul
	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	☐
		Ret

BÜTÇE DESTEKLERİ

"BİYOATIKLARDAN BİYOAKTİF MADDELERİN MİKROENKAPSÜLASYONU VE ÇEŞİTLİ GIDALARDAKİ SALIM DAVRANIŞLARI"

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 36079

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarımın tüm sürecinde bana çok yardımcı olan, yol gösteren, çalışmalarım konusunda beni sürekli teşvik eden, akademik açıdan beni her gün geliştiren, tüm bilgi ve birikimlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen, samimiyeti ve sıcaklığıyla her zaman yanımda olan değerli hocam, danışmanım Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ'ye içten duygularıyla sonsuz teşekkür ederim.

Tez izleme rapor dönemlerinde verdiği değerli görüşler ile araştırmalarımın ve çalışmalarımın doğru yönde ilerlemesine katkı sağlayan değerli tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Mehmet BİLGİN ve Doç. Dr. Nil ACARALI'ya içtenlikle çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın başından beri deneysel çalışmalar ve analizler konusunda büyük destekler sağlayan, bilgi birikimleri ve yardımlarıyla çalışmalarımın başarılı bir şekilde ilerlemesine önemli katkılar sunan değerli Doç. Dr. Mehmet TORUN ve eşi Dr. Öğr. Üyesi Ferhan BALCI TORUN'a minnettarlığımı sunmak isterim.

Deneysel çalışmalarım süresince her fırsatta bana yardımcı olan, gerçekleştirdiği araştırmalarla analiz yöntemlerinin belirlenmesine katkıda bulunan ve her zaman manevi destekleriyle yanımda olan değerli Dr. Öğr. Üyesi Ebru KURTULBAŞ ŞAHİN'e,

Analizlerdeki önemli katkıları ve çalışmamın zenginleşmesine olan destekleri için Gülderen COSGUN ve Keziban Kübra GÜNGÖR'e,

Bana her zaman inanan ve destekleyen, eğitimimi ön planda tutan canım anneme ve babama, Uzakta olmasına rağmen her zaman varlığını yanımda hissettiren, birçok konuda fikir alışverişinde bulunarak beni motive eden meslektaşım sevgili ablam Gizem TOPRAKÇI ÖZTÜRK'e,

Tez yazım sürecinde beni her zaman motive eden, desteği ile güç veren, sabrıyla ve anlayışıyla her zaman yanımda olan en büyük destekçim ve meslektaşım canım eşim Batuhan YÜKSEL'e Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	ii
BÜTÇE DESTEKLERİ	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ.....	xix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xxiv
ÖZET	xxvii
ABSTRACT	xxix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	4
2.1. BİYORAFİNERİ YAKLAŞIMI	4
2.1.1. Döngüsel Ekonomi Konsepti	8
2.1.2. Yaşam Döngüsü Değerlendirmesi.....	10
2.2. Mikroenkapsülasyon Teknolojisi.....	12
2.2.1. Biyoaktif Maddelerin Gıda Alanındaki Önemi ve Mikroenkapsülasyon Teknolojisinin Katkısı	15
2.2.2. İyonik Jelleşme ile Enkapsülasyon	18
2.2.3. Püskürtmeli Kurutma ile Enkapsülasyon	21
2.2.4. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri.....	24
2.2.4.1. Aljinat	24
2.2.4.2. Arap zımkı.....	26
2.2.4.3. Maltodekstrin.....	26
2.2.4.4. Kitosan.....	27
2.3. Fenolik Bileşikler.....	27
2.3.1. Fenolik asitler	28
2.3.2. Flavanoidler.....	29
2.3.3. Antosiyaninler	31

2.3.4. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi.....	32
2.3.4.1. Serbest Radikaller.....	32
2.3.4.2. Antioksidanlar	33
2.4. Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanımı	37
2.5. Model Gıda Ürünlerinde Uygulama	39
2.6. İstatiksel Deneysel Tasarım	42
2.6.1. Yanıt Yüzey Metodu	43
2.6.2. Box-Behnken Deney Tasarımı	44
2.6.3. Karışım Tasarımları.....	45
3. YÖNTEM	48
3.1. MALZEME.....	48
3.1.1. KİMYASAL MALZEMELER	48
3.1.2. BİYOATIKLAR.....	48
3.1.2.1. Zeytin yaprağı.....	49
3.1.2.2. Hibiskus	49
3.1.2.3. Kuşburnu Çekirdeği.....	49
3.1.2.4. Erik Kabuğu.....	49
3.1.2.5. Vişne Kabuğu.....	49
3.2. EKSTRAKSİYON İŞLEMİ.....	50
3.3. ENKAPSÜLASYON İŞLEMİ.....	52
3.3.1. İyonik Jelasyon Yöntemi.....	52
3.3.1.1. Sodyum Aljinat Çözeltilisinin Hazırlanması.....	52
3.3.1.2. $CaCl_2$ Çözeltilisinin Hazırlanması	52
3.3.1.3. Mikrokapsül Üretimi.....	53
3.3.2. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi	54
3.4. ANALİZLER	56
3.4.1. Kromatografik Analiz	56
3.4.2. Spektrofotometrik Analizler.....	57
3.4.2.1. Toplam Fenolik Madde Tayini	57
3.4.2.2. Yüzey Fenolik Madde Tayini	57
3.4.2.3. DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat) Serbest Radikal Yöntemi.....	58
3.4.2.4. Toplam Antosiyanin Analizi.....	58
3.5. IN VITRO SALIM TESTLERİ	59
3.6. MODEL GIDADA UYGULAMA	60

3.6.1. Zenginleştirilmiş ürünün oksidatif stabilitesi	61
3.6.2. Biyoaktivite Testleri	62
3.6.2.1. <i>Folin-Ciocalteu Metodu</i>	62
3.6.2.2. <i>ABTS Tayini</i>	62
3.7. MİKROKAPSÜLLERİN FİZİKOKİMYASAL ANALİZİ	63
3.7.1. İyonik Jelleşme Yöntemiyle Elde Edilen Mikro kapsüllere Uygulanan Analizler ..	63
3.7.1.1. <i>Enkapsülasyon Etkinliği</i>	63
3.7.1.2. <i>Aljinat Mikro kapsüllerin Şekli ve Morfolojisi</i>	63
3.7.2. Püskürtmeli Kurutma Yöntemiyle Elde Edilen Mikro kapsüllere Uygulanan	
Analizler	64
3.7.2.1. <i>Enkapsülasyon Etkinliği</i>	64
3.7.2.2. <i>Kurutma Verimliliği</i>	64
3.7.2.3. <i>Nem İçeriği</i>	65
3.7.2.4. <i>Su Aktivitesi</i>	65
3.7.2.5. <i>Çözünürlük Analizi</i>	65
3.7.2.6. <i>Yığın Yoğunluğu Analizi</i>	65
3.7.2.7. <i>Partikül Boyutu Ölçümü</i>	66
3.7.2.8. <i>Taramalı Elektron Mikroskobu ile Partikül Morfolojisinin Belirlenmesi</i>	66
3.8. DENEYSEL TASARIM	67
3.8.1. İyonik Jelleşme Prosesinin Deneysel Tasarımı	67
3.8.2. Püskürtmeli Kurutma Prosesinin Deneysel Tasarımı	68
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	70
4.1. İYONİK JELASYON YÖNTEMİYLE MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI	70
4.1.1. Aljinat Boncuklarında Zeytin Yaprağı Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu	70
4.1.1.1. <i>Proses Parametrelerinin Etkileri</i>	70
4.1.1.2. <i>Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması</i>	75
4.1.1.3. <i>Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları</i>	78
4.1.1.4. <i>Mikro kapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi</i>	79
4.1.1.5. <i>Aljinat ve Aljinat-Kitosan Mikro kapsüllerin Enkapsülasyon Etkinliği ve</i>	
<i>Stabilitesi: Karşılaştırmalı Değerlendirme</i>	80
4.1.1.6. <i>Mikro kapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı</i>	82
4.1.1.7. <i>Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin</i>	
<i>İyileştirilmesi</i>	83
4.1.2. Aljinat Boncuklarında Hibiskus Eksraktının Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu	85

4.1.2.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	85
4.1.2.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması.....	91
4.1.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	93
4.1.2.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi	93
4.1.2.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	95
4.1.2.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	96
4.1.3. Aljinat Boncuklarında Kuşburnu Çekirdeği Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu	98
4.1.3.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	98
4.1.3.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması.....	103
4.1.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	105
4.1.3.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi	106
4.1.3.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	107
4.1.3.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	108
4.1.4. Aljinat Boncuklarında Erik Kabuğu Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu	111
4.1.4.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	111
4.1.4.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması.....	116
4.1.4.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	119
4.1.4.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi	119
4.1.4.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	121
4.1.4.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	122
4.1.5. Aljinat Boncuklarında Vişne Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu.....	125
4.1.5.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	125
4.1.5.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması.....	130
4.1.5.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	132
4.1.5.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi	133
4.1.5.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	134
4.1.5.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	135
4.2. PÜSKÜRTMELİ KURUTMA YÖNTEMİYLE MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI	137
4.2.1. Zeytin Yaprağı Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu .	137
4.2.1.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	137
4.2.1.2. Modelleme Çalışması	141

4.2.1.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	143
4.2.1.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	144
4.2.1.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	147
4.2.1.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	148
4.2.2. Hibiskus Ekstraktının Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu.....	150
4.2.2.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	150
4.2.2.2. Modelleme Çalışması	156
4.2.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	159
4.2.2.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	159
4.2.2.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	162
4.2.2.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	163
4.2.3. Kuşburnu Çekirdeği Ekstraktının Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu	165
4.2.3.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	165
4.2.3.2. Modelleme Çalışması	170
4.2.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	172
4.2.3.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	173
4.2.3.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	175
4.2.3.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	176
4.2.4. Erik Kabuğu Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu.....	178
4.2.4.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	178
4.2.4.2. Modelleme Çalışması	183
4.2.4.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	187
4.2.4.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	188
4.2.4.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	191
4.2.4.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	192
4.2.5. Vişne Kabuğu Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu ..	194
4.2.5.1. Proses Parametrelerinin Etkileri.....	194
4.2.5.2. Modelleme Çalışması	199
4.2.5.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları.....	202
4.2.5.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu	203
4.2.5.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı.....	206

4.2.5.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi	207
4.3. KARŞILAŞTIRMALI SONUÇLAR.....	210
4.3.1. Ekstraktların Fenolik İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	210
4.3.2. İyonik Jelasyon Verimlerinin Karşılaştırılması.....	211
4.3.3. Püskürtmeli Kurutma Verimlerinin Karşılaştırılması	211
4.3.4. Ürünlerin <i>in vitro</i> Salım Davranışlarının Karşılaştırılması	214
4.3.5. Ürünlerin Model Gıda Ürünlerinde Performanslarının İncelenmesi.....	215
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	220
KAYNAKLAR	223
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	244

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Biyorafineri piramidi - biyo-değer hiyerarşisi.	6
Şekil 2.2: Meyve ve sebzelerden elde edilen biyoatıklardan özel olarak tasarlanmış bir biyorafineri şeması.	7
Şekil 2.3: Biyoatıklara uygulanan döngüsel ekonomi konseptinin şeması.	9
Şekil 2.4: Yaşam döngüsü değerlendirmesinin metodolojik genel bakışı.	10
Şekil 2.5: Mikroenkapsülleme teknolojileri.	13
Şekil 2.6: Mikrokapsül üretim adımları.	14
Şekil 2.7: Farklı mikrokapsül tipleri: a) basit çekirdek-kabuk veya kapsül, b) çok çekirdekli kapsül, c) çok duvarlı yapı ve d) matris tipi veya küre [29].	14
Şekil 2.8: İyonik jelleşme yöntemi ile kalsiyum ve sodyum iyonlarının etkileşimi.	19
Şekil 2.9: İyonik jelleşmenin şematik diyagramı.	19
Şekil 2.10: Püskürtmeli kurutucu şematik diyagramı.	22
Şekil 2.11: Yumurta kutusu modeli.	24
Şekil 2.12: Aljinattaki G bloğu, M bloğu ve alternatif bloğun kimyasal yapıları.	25
Şekil 2.13: : Hidroksibenzoik (a) ve hidroksisinnamik (b) asitlerin örnekleri.	29
Şekil 2.14: Temel flavonoid yapısı.	30
Şekil 2.15: Temel antosiyanin yapısı.	31
Şekil 2.16: En yaygın antosiyanin örnekleri.	32
Şekil 2.17: Fenolik antioksidanların sınıflandırılması.	36
Şekil 2.18: Biyoyararlanımın içeriğinin şematik gösterimi.	38
Şekil 2.19: Deneysel tasarım aşamaları.	43
Şekil 2.20: Box-Behnken tasarımında deneysel noktaların dağılımı.	45

Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan (a) zeytin yaprağı, (b) hibiskus, c) kuşburnu çekirdeği, (d) erik kabuğu, (e) vişne kabuğu biyoatıkları.	48
Şekil 3.2: Otomatik çözücü ekstraksiyonu proses aşamaları (“SER 158 Series Automatic Solvent Extractor”, 2021).	50
Şekil 3.3: Biyoatıkların ekstraksiyonu için OÇE sistemi.	51
Şekil 3.4: Sodyum aljinat çözeltisinin hazırlanışı.	52
Şekil 3.5: Kalsiyum klorür çözeltisinin hazırlanışı.	53
Şekil 3.6: Aljinat boncuklarının iyonik jelleşme yöntemiyle hazırlanmasının şematik gösterimi.	54
Şekil 3.7: Püskürtmeli kurutma ünitesi (Büchi Mini Spray Dryer B-290).	54
Şekil 3.8: HPLC cihazı.	56
Şekil 3.9: Antosiyanin analizi.	59
Şekil 3.10: Simüle edilmiş in-vitro salım ortamı.	60
Şekil 3.11: Ransimat cihazı.	61
Şekil 3.12: Mikrokapsüllerle zenginleştirilmiş yağların oksidatif stabilite ölçüm süreci.	62
Şekil 3.13: Taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss Leo 1430, Oberkochen, Almanya).	67
Şekil 4.1: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.	71
Şekil 4.2: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.	73
Şekil 4.3: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.	74
Şekil 4.4: Optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.	79
Şekil 4.5: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.	80

Şekil 4.6: Optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat ve aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerin (a) EE_{TFM} ve (b) $EE_{Oleuropein}$ değerleri.....	81
Şekil 4.7: Optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat ve aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerin indüksiyon süresi değerleri. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....	82
Şekil 4.8: Optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....	83
Şekil 4.9: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....	84
Şekil 4.10: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.....	87
Şekil 4.11: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	89
Şekil 4.12: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.	90
Şekil 4.13: Optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.	94
Şekil 4.14: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.	95
Şekil 4.15: Optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....	95
Şekil 4.16: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....	97
Şekil 4.17: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.....	100
Şekil 4.18: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	101

Şekil 4.19: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	103
Şekil 4.20: Optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.	106
Şekil 4.21: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.	107
Şekil 4.22: Optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarına salım oranları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	108
Şekil 4.23: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	109
Şekil 4.24: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri....	113
Şekil 4.25: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	114
Şekil 4.26: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.	115
Şekil 4.27: Optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.	119
Şekil 4.28: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.	121
Şekil 4.29: Optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarına salım oranları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	122
Şekil 4.30: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	124
Şekil 4.31: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri. ...	127
Şekil 4.32: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon	

etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	128
Şekil 4.33: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.....	129
Şekil 4.34: Optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotoğrafı.	133
Şekil 4.35: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.	134
Şekil 4.36: Optimum iyonik jelleşme koşullarında vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	135
Şekil 4.37: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	136
Şekil 4.38: Zeytin yaprağı ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri.	140
Şekil 4.39: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.	146
Şekil 4.40: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içersine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	147
Şekil 4.41: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	149
Şekil 4.42: Hibiskus ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkileri.	153
Şekil 4.43: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.....	161
Şekil 4.44: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içersine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	162

Şekil 4.45: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda hibiskus ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	164
Şekil 4.46: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliğı, (b) kurutma verimliliğı (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri.	168
Şekil 4.47: Kuşburnu çekirdeğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.	174
Şekil 4.48: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında kuşburnu çekirdeğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içersine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	176
Şekil 4.49: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda kuşburnu çekirdeğı ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	177
Şekil 4.50: Erik kabuğı ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliğı, (b) kurutma verimliliğı (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriğı üzerindeki etkileri.	182
Şekil 4.51: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.	190
Şekil 4.52: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içersine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	191
Şekil 4.53: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda erik kabuğı ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	193
Şekil 4.54: Vişne kabuğı ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliğı, (b) kurutma verimliliğı (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriğı üzerindeki etkileri.	197
Şekil 4.55: Vişne kabuğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.	205
Şekil 4.56: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında vişne kabuğı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içersine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.	206

Şekil 4.57: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda vişne kabuğu ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....208

Şekil 4.58: Aktif madde kaynaklarının toplam fenolik madde seviyelerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. 210

Şekil 4.59: Optimum koşullarda iyonik jelasyon ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....211

Şekil 4.60: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....212

Şekil 4.61: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin kurutma verimliliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....213

Şekil 4.62: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivitelerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....213

Şekil 4.63: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin toplam antosiyaninlerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.....214

Şekil 4.64: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin *in vitro* salım davranışlarının karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı).....215

Şekil 4.65: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının oksidasyona karşı direncinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı) 216

Şekil 4.66: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırözü yağının oksidasyona karşı direncinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı) 217

Şekil 4.67: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının toplam fenolik içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı).....217

Şekil 4.68: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırözü yağının fenolik içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı).....218

Şekil 4.69: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının antioksidan aktivite içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı).....219

Şekil 4.70: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırözü yağının antioksidan aktivite içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı).....219

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Belirli ürünlerde çeşitli bitki özütleri içeren mikrokapsüllerin uygulamaları.....	39
Tablo 3.1: Aljinat taneciklerinde aktif maddelerin iyonik jelleşme yöntemiyle mikrokapsüllemesi için seçilen proses parametreleri ve seviyeleri.....	53
Tablo 3.2: Bitkisel ekstraktların püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsüllemesi için seçilen proses parametreleri ve seviyeleri.	55
Tablo 3.3: Bitkisel ekstraktların aljinat taneciklerinde iyonik jelleşme yöntemiyle mikrokapsülasyonu için Box-Behnken tasarımı-YYM ile oluşturulan tasarım matrisi.	68
Tablo 3.4: Bitkisel ekstraktların püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan tasarım matrisi.	69
Tablo 4.1: Zeytin yaprağı ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.....	70
Tablo 4.2: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.....	76
Tablo 4.3: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin oleuropein içeriği açısından kapsülleme etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.	76
Tablo 4.4: Zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.	79
Tablo 4.5: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	85
Tablo 4.6: Hibiskus ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken-tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.....	86
Tablo 4.7: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.	91
Tablo 4.8: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.	92

Tablo 4.9: Hibiskus ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.	93
Tablo 4.10: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	97
Tablo 4.11: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.....	99
Tablo 4.12: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.....	104
Tablo 4.13: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.	104
Tablo 4.14: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.....	106
Tablo 4.15: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	110
Tablo 4.16: Erik kabuğu ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.....	111
Tablo 4.17: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.....	117
Tablo 4.18: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.	117
Tablo 4.19:Erik kabuğu ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.	119
Tablo 4.20: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	124
Tablo 4.21: Vişne kabuğu ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.....	126
Tablo 4.22: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.....	131

Tablo 4.23: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.	131
Tablo 4.24: Vişne kabuğu ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.	133
Tablo 4.25: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	137
Tablo 4.26: Zeytin yaprağı ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.	138
Tablo 4.27: Zeytin yaprağı ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.	142
Tablo 4.28: Zeytin yaprağı ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite için optimum koşullar*.	144
Tablo 4.29: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.	144
Tablo 4.30: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.	146
Tablo 4.31: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	149
Tablo 4.32: Hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.	150
Tablo 4.33: Hibiskus ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.....	157
Tablo 4.34: Hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum toplam enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.	159
Tablo 4.35: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.....	160
Tablo 4.36: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.	161

Tablo 4.37: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	164
Tablo 4.38: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.....	166
Tablo 4.39: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.....	171
Tablo 4.40: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite için optimum koşullar*.....	173
Tablo 4.41: Optimum püskürtmeli koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.....	173
Tablo 4.42: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.....	175
Tablo 4.43: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	178
Tablo 4.44: Erik kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.....	179
Tablo 4.45: Erik kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.....	185
Tablo 4.46: Erik kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.....	188
Tablo 4.47: Püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.....	188
Tablo 4.48: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.....	190
Tablo 4.49: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.....	194
Tablo 4.50: Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.....	195

Tablo 4.51: Vişne kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.	200
Tablo 4.52: Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.	203
Tablo 4.53: Püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.	203
Tablo 4.54: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.	205
Tablo 4.55: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.	209

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
°C	: Derece
β_0	: Sabit katsayı
β_i	: Lineer etki katsayısı
β_{ii}	: İkinci dereceden kuvvetin etki katsayısı
β_{ij}	: Etkileşim katsayısı
c_p	: Merkezi nokta sayısı
cm	: Santimetre
DF	: Seyreltme faktörü
g	: Gram
k	: Faktör sayısı
kg	: Kilogram
L	: Litre
M	: Molarite
mbar	: Milibar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
$\cdot\text{OH}$	: Hidroksil radikali
$\text{O}_2\cdot^-$	: Süperoksit anyon radikali
3D	: 3 boyutlu
ρ_b	: Yığın yoğunluğu
ρ_t	: Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu
R^2	: Determinasyon katsayısı
R^2_a	: Ayarlanmış determinasyon katsayısı
R^2_t	: Tahmini determinasyon katsayısı
rpm	: Dakika başına devir
sa	: Saat
X_i	: Kodlanmamış değişken

Kısaltmalar**Açıklama**

AA	: Antioksidan aktivite
ABS	: Absorbans
ANOVA	: Varyans analizi
ASE	: Automatic solvent extraction
BBD	: Box-Behnken tasarımı
BHA	: Butillenmiş hidroksianisol
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
CI	: Carr indeksi
CV	: Varyasyon katsayısı
D_[2,3]	: Yüzey ağırlıklı ortalama ϕ
D_[4,3]	: Yüzey ağırlıklı ortalama ϕ
D₁₀	: %10 kümülatif hacime sahip eşdeğer hacimsel ϕ
D₅₀	: %50 kümülatif hacime sahip eşdeğer hacimsel ϕ
D₉₀	: %90 kümülatif hacime sahip eşdeğer hacimsel ϕ
EE	: Enkapsülasyon etkinliği
EFSA	: Avrupa gıda güvenliği otoritesi
EtOH	: Etanol
EY	: Encapsulation yield
FDA	: Gıda ve ilaç idaresi
GAE	: Gallik asit eşdeğer
GRAS	: Genellikle güvenli kabul edilir
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
ISO	: Uluslararası standart organizasyonu
KD	: Küresellik değeri
KM	: Kuru madde
KV	: Kurutma verimliliği
LCA	: Life cycle assessment
MeOH	: Metanol
MW	: Moleküler ağırlık
OÇE	: Otomatik çözücü ekstraksiyonu
OG	: Oktil gallat
PG	: Propil gallat

ROT	: Reaktif oksijen türleri
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
RSM	: Response surface methodology
SBS	: Simüle bağırsak sıvısı
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SF	: Şekil faktörü
SGS	: Simüle gastrik sıvı
TA	: Toplam antosiyanin
TBHQ	: Tert-butilhidrokinon
TEAC	: Troloks eşdeğeri
TFM	: Toplam fenolik madde
UV	: Ultraviyole
YFM	: Yüzey fenolik madde
YYM	: Yanıt yüzey metodu

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[BİYOATIKLARDAN BİYOAKTİF MADDELERİN MİKROENKAPSÜLASYONU VE ÇEŞİTLİ GIDALARDAKİ SALIM DAVRANIŞLARI]

[İrem TOPRAKÇI YÜKSEL]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ]

[Bu tez, biyokütleden yüksek katma değerli maddelerin çevre dostu yöntemlerle geri kazanılmasını amaçlayan bir çalışmadır. Bunun için de seçilmiş olan ham maddeler (zeytin yaprağı, hibiskus, kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu) öncelikle sulu alkol çözeltisi ile yine ileri bir ekstraksiyon sistemi olan Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu (OÇE) sistemiyle ekstrakte edilmiştir. Biyoaktif bileşenlerce zengin ekstraktlara sırasıyla iyonik jelasyon ve püskürtmeli kurutma yöntemleri ile mikroenkapsülasyon işlemi uygulanmıştır. Mikroenkapsülasyon süreçleri için istatistiksel deneysel tasarım yöntemi olan Yanıt Yüzey Metodolojisi (YYM) kullanılmıştır. Bu şekilde optimum koşullar belirlenmiş, sistemler modellenmiş ve her bir parametrenin sistemler üzerindeki etkisi tayin edilmiştir. Optimizasyon yapılırken hedef en yüksek enkapsülasyon etkinliği (EE), en yüksek kurutma verimliliği (KV) ve en yüksek biyoaktif özellik (fenolik bileşenler, antosiyaninler ve antioksidan aktivite gibi) gibi bağımlı değişkenler olmuştur. Bağımsız değişken olarak da kullanılan enkapsülasyon yöntemine bağlı olarak duvar malzemesi oranı, duvar malzemesi konsantrasyonu, süre ve sıcaklık seçilmiştir. Bağımlı ve bağımsız değişken seçimleri ve seviyeleri yapılmış olan çalışmalar ve ön denemeler dikkate alınarak belirlenmiştir. Ayrıca, optimum koşullarda elde edilen mikrokapsül örneklerinin çeşitli morfolojik (partikül boyutu dağılımı ve partikül şekli) ve fizikokimyasal özellikleri (nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu,

sıkıştırılmış yığın yoğunluk ve Carr indeksi) de belirlenmiştir. Aynı örnekler, ilgili biyoaktiflerin biyoyararlanımını belirlemek amacıyla *in vitro* salım çalışmasına tabi tutulmuştur. Son olarak, parçacıklar gıdaların fonksiyonel özelliklerini arttırmak amacıyla en çok tüketilen 2 model gıda ürününe (ayçiçek yağı ve mısırözü yağı) gıda katkı maddesi olarak uygulanmıştır. Gıda ürünlerindeki iyileştirmeler oksidasyona karşı direnç, fenolik madde ve antioksidan aktivite açısından değerlendirilmiştir.]

Haziran 2024 , [282] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Gıda güvenliği, biyorafineri, doğal katkı maddeleri, fonksiyonel gıdalar, çok değişkenli optimizasyon.]



ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

[MICROENCAPSULATION OF BIOACTIVE SUBSTANCES FROM BIOWASTE AND THEIR RELEASE BEHAVIOR IN VARIOUS FOODS]

[İrem TOPRAKÇI YÜKSEL]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operations and Thermodynamics Program

[Supervisor : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ]

[This thesis is a study that aims to recover added high value-added substances from biomass with environmentally friendly methods. For this purpose, the selected raw materials (olive leaves, hibiscus, rosehip seed, plum peel and sour cherry peel) were first extracted with aqueous alcohol solution using the Automatic Solvent Extraction (ASE) system, which is also an advanced extraction system. Microencapsulation process was applied to the extracts rich in bioactive components by ionic gelation and spray drying methods, respectively. Response Surface Methodology (RSM), a statistical design method, was used for microencapsulation. In this way, optimum conditions were determined, the systems were modeled, and the effect of each parameter on the systems was determined. While optimizing, the target was dependent variables such as the highest encapsulation efficiency (EE), the highest encapsulation yield (EY) and the highest bioactive properties (such as phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity). Depending on the encapsulation method used, wall material ratio, wall material concentration, time and temperature were selected as independent variables. Dependent and independent variable selections and levels were determined by taking into

account previous studies and preliminary trials. Additionally, various morphological (particle size distribution and particle shape) and physicochemical properties (moisture content, water activity, solubility, bulk density, tapped bulk density and Carr index) of microcapsule samples obtained under optimum conditions were also determined. The same samples were subjected to *in vitro* release studies to determine the bioavailability of the relevant bioactives. Finally, the particles were applied as food additives to the 2 most consumed model food products (sunflower oil and corn oil) in order to increase the functional properties of foods. Improvements in food products were evaluated in terms of resistance to oxidation, phenolic substances and antioxidant activity.]

June 2024, [282] pages.

Keywords: [Food safety, biorefinery, natural additives, functional foods, multivariate optimization]

1. GİRİŞ

Son yıllarda yapılmış olan araştırmalar tarımsal endüstriyel yan ürünlerin, medikal ve aromatik bitkilerin ham madde olarak kullanılarak biyoürünlerin veya yüksek katma değerli gıda bileşenlerinin üretilmesinin önemini vurgulamaktadır. Bu kapsamdaki doğal özellikteki ürünlerin araştırmalarında, organik çözücülerin, enerjinin ve zamanın aşırı kullanımını değiştirmek veya azaltmak için teknolojik çözümleri ölçeklendirmek, yapılandırmak ve yaymak için çaba sarfedilmektedir [1]. “Yeşil Kimya”, çevreye daha az zarar veren yenilikçi teknikleri kullanmayı amaçlamaktadır. Doğal ürünlerin yeşil ve sürdürülebilir ekstraksiyon yöntemlerinin tasarımı, şu anda uygulamalı kimya, biyoloji ve teknolojinin çok disiplinli alanında çok güncel bir araştırma konusudur [2]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, kritik altı su ekstraksiyonu, yüksek basınçlı sıvı ekstraksiyonu, ultrason destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan uygulamaları ve otomatik çözücü ekstraksiyonu gibi sistemler doğal ürünlerin geri kazanımında çevre dostu yeşil ekstraksiyon yöntemleri olarak daha hızlı ve daha otomatik prosesler olarak kullanılmıştır [3]. Bu yeni yöntemler, inert atmosferlerde yüksek sıcaklık ve/veya basınçta çalıştıkları için daha kısa ekstraksiyon süreleri gerektirmeleri ve daha az solvent tüketmeleri nedeniyle geleneksel yöntemlere göre avantajlara sahiptir. Bu nedenle, enerji tüketimini azaltan süreçlerin tasarımına dayanan yeşil ekstraksiyon, alternatif, yenilenebilir solventlerin kullanımına olanak tanır ve güvenli ve kaliteli ürünleri garanti eder [2, 3].

Yeşil kimya prensiplerini takip eden ekstraksiyonların sağladığı faydalara rağmen vitaminler, probiyotikler, mineraller, polifenoller, omega-3 yağ asitleri ve fitosteroller gibi biyoaktif bileşikler oksijene, ışığa, ısıya, suya duyarlıdır ve kolayca oksitlenir. [4]. Bu durum, bu değerli bileşenlerin gıda endüstrisindeki uygulamalarını sınırlamaktadır. Bu bağlamda mikroenkapsülasyon teknolojisi bu zorlukların üstesinden gelmek için bir alternatiftir. Bu teknik, besin maddesinin gıdada daha uzun süre tutulmasına ve kontrollü ve hedefli olarak salınmasına olanak tanır, işleme ve depolama sırasında aktif maddenin stabilitesini korur ve gıda matrisi ile istenmeyen etkileşimleri önler. Bu nedenle mikrokapsülleme bozunma süreçlerini geciktirir, tatları ve/veya hoş olmayan kokuları maskeler, biyoyararlanımı artırır ve biyoaktif bileşenin işlevselliğini korur [5].

Diğer taraftan, sağlık sorunları dünya nüfusu için yeni ortaya çıkan bir endişe kaynağıdır. Dolayısıyla gıda endüstrisi, çok az sentetik içerik içeren veya hiç içermeyen, sağlığı teşvik eden biyoaktif bileşikler içeren yeni gıda ürünleri arayışındadır. Bununla birlikte, özellikle bazı biyoaktif maddelerin doğrudan kullanımının söz konusu olduğu fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde bazı zorluklar bulunmaktadır. Doğrudan kullanılan aktif maddeler (etrafı duvar malzemesi ile kaplanarak aktif maddenin çekirdeğe hapsedilmesi), stabilite sorunları gösterebilir, diğer gıda matrisi bileşenleriyle reaksiyona girebilir veya güçlü koku ve/veya tatlar ortaya çıkarabilirler. Yine bu bağlamda mikrokapsülleme, bu sorunların üstesinden gelmek ve buna ek olarak kontrollü veya hedefli dağıtım veya salım sağlamak için potansiyel bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Ne yazık ki biyoaktif maddelerin mikrokapsülasyonu ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olmasına rağmen, bunlar esas olarak süreç geliştirmeye odaklanmıştır ve çoğunluğu nihai uygulamalardan yoksundur [6].

Tüm bu gelişmeler ve eksiklikler dikkate alınarak, bu tez çalışması ile biyoaktif maddeler (ekstraktlar), bunların mikrokapsülasyonu ve son olarak gıdasal ürünlere uygulanmasının geliştirilmesi üzerine kapsamlı bir çalışma yaparak, fonksiyonel gıda geliştirme alanına katkıda bulunma hedeflenmiştir. Bu kapsamda ilk olarak hem ekolojik hem de ekonomik açılardan önemli bir proses planlanarak kolay bulunabilen ve sürekliliği olan kaynaklar (zeytin yaprağı, hibiskus, kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu) değerlendirilmiştir. İkinci adımda bu kaynaklar geleneksel yöntemlere yeni ve gelişmiş bir alternatif işlem olarak Otomatik Solvent Ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmişlerdir. Bu yöntem için yüksek sıcaklık ve basınç gibi çalışma parametreleri gerekli değildir. Bu da hassas biyoaktif bileşenlerin muhafaza edilmesi için söz konusu yöntemi kaçınılmaz hale getirmektedir. Üçüncü adım da fizikokimyasal bir yöntem olan iyonik jelyasyon ve fiziksel bir yöntem olan püskürtmeli kurutma kullanılarak, aktif maddelerce zengin ekstraktlar çeşitli duvar malzemeleri (aljinat, kitosan, Arap zıncı ve maltodekstrin) içerisine hapsedilmiştir. Yöntemlerin tercihinde en eski, en popüler ve en çok referans edilen teknolojiler olması önemli olmuştur. Her bir ham madde için uygulanan mikrokapsülasyon sistemi, istatistiksel deneysel tasarım ile optimize edilmiş, modellenmiş ve proses parametrelerinin sistem üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Dördüncü adım da optimum koşullarda üretilmiş olan mikro partiküllerin insan sindirim sistemi üzerindeki etkilerini analiz etmek için de simüle edilmiş gastrointestinal sindirim sistemi deneyleri yürütülmüştür. Bu şekilde, simüle edilmiş mide-bağırsak koşulları altında ilgili bileşiklerin salımı değerlendirilmiştir. Beşinci adımda ise elde edilmiş olan ürünler gıda katkı maddesi olarak 2 farklı model üründe uygulanmıştır. Bunun için de dünya çapında en fazla tüketilen,

oksidasyona direnci nispeten düşük ve dolayısıyla raf ömrü kısa bitkisel yağlardan olan ayçiçek ve mısırözü yağları tercih edilmiştir. Gıda örneklerinin fonksiyonel özelliklerindeki iyileşme oksidasyona karşı direnç, fenolik bileşen ve antioksidan aktivite gibi parametreler karşılaştırmalı olarak ölçülerek değerlendirilmiştir.



2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. BİYORAFİNERİ YAKLAŞIMI

İnsan nüfusunun hızlı artışı, gıda ve yem gibi ortak kaynaklara olan yönelimi ciddi oranda arttırmıştır. Bu da çok büyük miktarda atık oluşumuna sebep olmaktadır. 2050 yılına gelindiğinde, küresel olarak toplam belediye katı atık miktarının 3.4 milyar ton seviyesine yükselmesi öngörülmekte, bu da o dönemde beklenen dünya nüfusunun iki katına denk gelmektedir. Belediye katı atıkların içinde gıda ve organik atıklar, yaklaşık 1,3 milyar tonla en yüksek ağırlık yüzdesine sahiptir. Tarımsal atık üretimi, gübreler, kabuklar, bitki sapları, yapraklar, sebze artıkları ve yatak malzemeleri gibi unsurları içerir ve çeşitli tarım faaliyetlerinden kaynaklanan etkinlikler nedeniyle artmıştır. Ortaya çıkan büyük atık hacmi, küresel amonyak emisyonları sebebiyle hava kirliliği ve tarımsal yan ürünlerin yetersiz şekilde bertaraf edilmesinden kaynaklanan su kaynağı kirliliği gibi çeşitli çevresel kirliliklere yol açmıştır [7]. Gıda ve tarım atıkları günümüzde ciddi sonuçlar doğuran bir sorun haline gelmiştir. Bu atıkların etkili bir şekilde ele alınmaması ekonomi, çevre ve insan sağlığına olumsuz etkiler yapabilir [8].

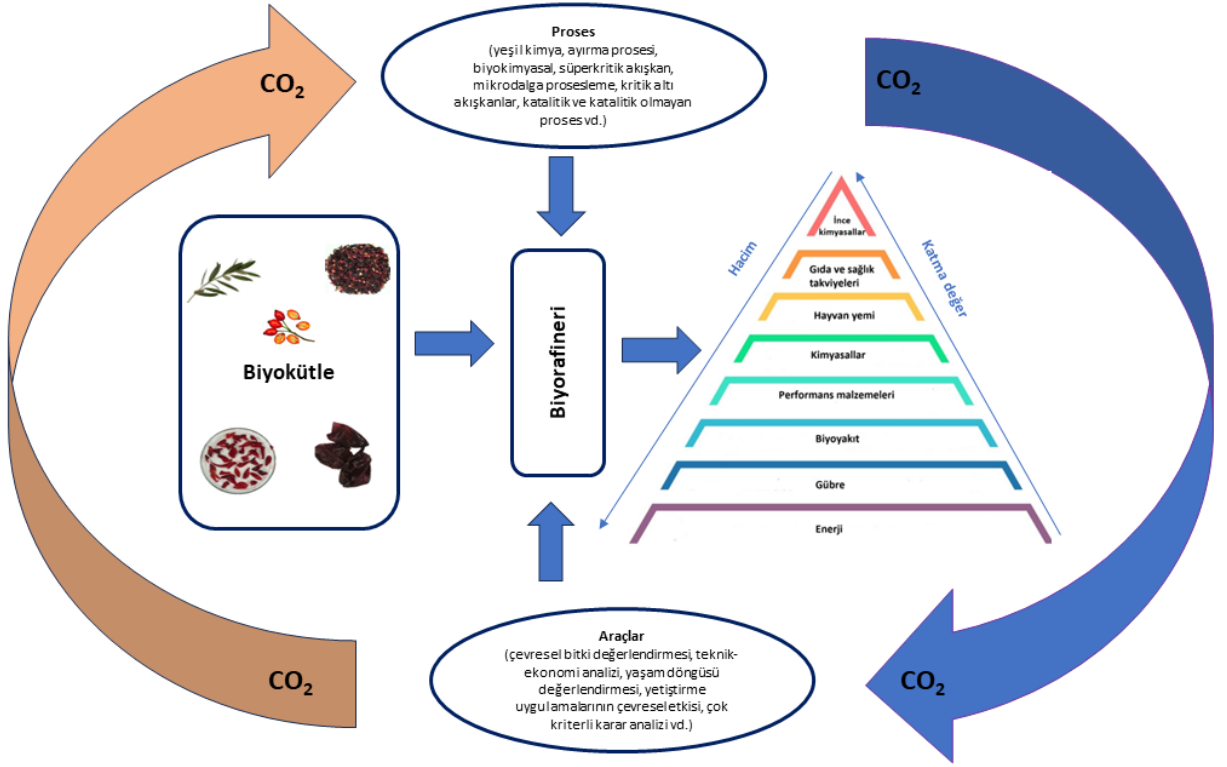
Tarımsal atıkların etkili bir şekilde yönetilmesi için, depolama sahalarına dökme, açık alanlara atık bırakma, yakma, kompostlama, geri dönüşüm ve atık geri kazanımı gibi uygulamaları kapsayan çeşitli yöntemler mevcuttur. Depolama sahalarına dökme ve açık alanlara atık bırakma, çoğu ülkenin kullandığı yaygın atık bertaraf yöntemidir. Bu yöntemde atıkların %60-80'i bataklık ve alçak alanlarda biriktirmektedir. Günümüzün atık yönetimi stratejileri aynı zamanda yakma, kompostlaştırma ve geri dönüşümü de içermektedir, ancak depolama sahasının hızlı doldurulması, yakmanın yüksek işletme ve başlangıç maliyetleri ve kompostlaştırmayla ilgili önemli bakım masrafları nedeniyle bazı zorluklar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle tarımsal atıkların yönetilmesinde sürdürülebilir ve çevre dostu bir yaklaşıma yönelik bir talep ortaya çıkmaktadır [7].

Atıkların değerlendirilmesi yeni biyoürünlerin keşfedilmesi için büyük bir fırsat sunmaktadır. Bu yaklaşım biyorafineri perspektifini daha kapsamlı hale getirir. Biyorafineri yaklaşımı, atıkları sadece ortadan kaldırmak yerine onları değerli ürünlere dönüştürmeyi amaçlar. Bu

strateji, ekonomik, çevresel ve sürdürülebilirlik açısından büyük avantajlar sağlar. Bu dönüşüm, özellikle gıda ve tarım sektöründe, geleceğin sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşmak için önemli bir adımdır [8].

Biyorafineriler, biyolojik materyallerden ürün elde etmek veya biyokütlelerin kimyasal bileşenlerini çıkarmak amacıyla kullanılan entegre bir endüstri yaklaşımını temsil eder. Geniş bir teknolojik tanım olarak, biyorafineri, organik atıklar, enerji bitkileri, suda yaşayan biyokütle gibi farklı biyokütle türlerinin gıda, yem, kimyasallar, malzemeler, yakıtlar, güç ve ısı gibi geniş bir yelpazede biyo-bazlı ürüne dönüştürülmesini amaçlar. Bu yaklaşım, sadece enerji üretiminden daha geniş bir kavramı kapsar ve bitkisel biyokütleleri çeşitli sektörlerde kullanılabilir kimyasallara dönüştürmeyi hedefler. Biyorafineriler, biyokütle içeriğini ayrıştırarak her bir bileşeni en iyi şekilde kullanmaya yönelik bir strateji benimser. Bu yaklaşım, yan ürünlerin etkili bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadır ve ürünler, ince kimyasallardan ilaçlara ve gıda ürünlerine kadar bir hiyerarşi içinde sınıflandırılmaktadır.

Biyorafineri çıktıları, biyokütle dönüşümlerinin değerini gösteren bir biyo-değer hiyerarşisi içinde sınıflandırılır (Şekil 2.1). Bu hiyerarşi, yeni döngüsel tarım veya ekonomik modellere dayalıdır. Üst seviyede, ince ve farmasötik kimyanın önemli bileşenleri yer alır; aşılarda, antibiyotikler ve immünoterapi proteinlerinin sentezinde kritik rol oynarlar. Alt basamaklarda biyorafineri ürünlerinin sıralaması, beslenme ve hayvan yemi ürünlerine yönelir. Bunu kimyasal endüstriler için biyoplastikler, yağlayıcılar, çözücüler, yapıştırıcılar, lifler ve boyalar gibi maddeler izler. Piramidin altında ise enerji sektörü ihtiyaçlarını karşılamak için fermantasyonla biyogaz ve biyoyakıt üretiminde kullanılan malzemeler bulunur [8].

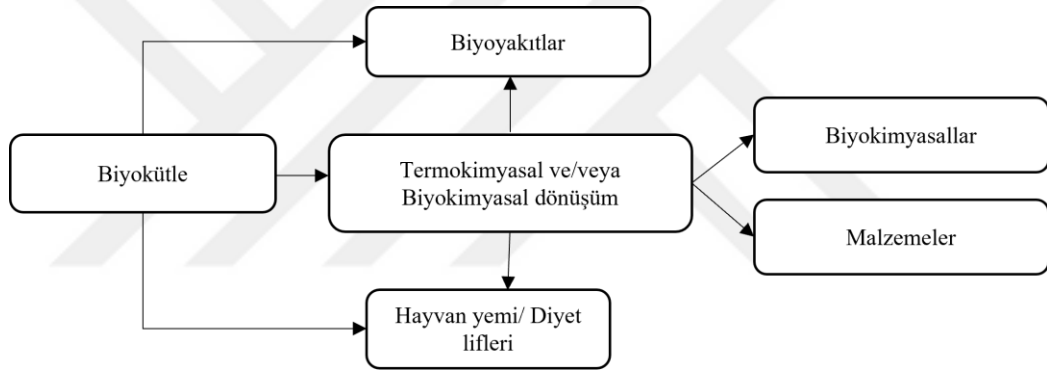


Şekil 2.1: Biyorafineri piramidi - biyo-değer hiyerarşisi.

Petrol rafinerilerinin aksine, biyorafineriler genellikle farklı boyutlarda bir dizi tesis içerebilir. Bu bağlamda, farklı biyo-endüstriler, malzeme akışlarını birleştirerek tüm biyokütle bileşenlerinin tam kullanımını hedefler. Bu entegre biyo-endüstriyel sistemlerin oluşumu, bir endüstrinin atığı (örneğin, lignoselülozik etanol üretim tesisi artığı) diğer endüstriler için girdi olarak kullanılabilir, böylece entegre sistemlerin oluşmasına olanak tanınır. Ayrıca, biyokütle kaynakları birçok ülkede yerel olarak bulunur ve bunların kullanımı, ithal edilen fosil yakıtlara olan ulusal bağımlılığı azaltmaya yardımcı olabilir [9].

Biyorafineriler genel olarak dönüşüm teknolojilerine dayalı olarak birincil (geleneksel) ve ikincil (gelişmiş) biyorafineri olarak iki gruba ayrılır. Bu bağlamda, birincil ve ikincil biyorafineri kategorileri, biyoatıkların ekstraksiyon yoluyla geri kazanımı ve daha sonra gıda ürünlerinde kullanımı için stratejileri içerebilir. Birincil biyorafineri, ham biyoatıkların dönüşümünü içerirken, ikincil biyorafineri daha önce işlenmiş biyoatıkların daha fazla işlenerek değerli bileşenlerin çıkarılması sürecine odaklanır. Bu süreç, biyoaktif bileşenlerin, örneğin antioksidanlar veya vitaminler gibi, ekstraksiyon yoluyla ayrılmasını ve daha sonra mikroenkapsülasyon gibi yöntemlerle korunmasını içerebilir [10].

Biyorafineri endüstrilerinde yeşil kimyasal işlem, yeşil ekstraksiyon teknikleri ve biyokimyasal işlemler, entegre bir biyorafineri sisteminin bir örneğidir [11]. Gelecekte sürdürülebilir biyoyakıt ve biyokimyasal üretimin yaratılmasını sağlamak için, yeşil kimya ilkelerinin biyorafinerilere entegre edilmesinin yanı sıra, minimum ekolojik ayak izine sahip çevre dostu teknolojilerin kullanılması esastır. Yeşil kimya, ekolojik açıdan zararlı ve tehlikeli kimyasalların kullanımını veya oluşumunu ortadan kaldırmak amacıyla ürünlerin oluşturulmasına ve uygulanmasına yönelik bir dizi yönergeyi kapsar. Yeşil kimyanın biyorafinerilerle birleştirilmesinin nihai amacı, çevre dostu ve sürdürülebilir kimyasal ürünlerin üretimidir [9]. Şekil 2.2, meyve ve sebzelerden elde edilen biyoatığın değerli ürünlere dönüştürülmesi için biyorafineri yaklaşımının şemasını göstermektedir. Bu durumlarda, biyokütle ya doğrudan kullanılır ya da fiziksel veya kimyasal değişikliklerden sonra işleme tabi tutulur [12].



Şekil 2.2: Meyve ve sebzelerden elde edilen biyoatıklardan özel olarak tasarlanmış bir biyorafineri şeması.

Döngüsel ekonomi konsepti ve yaşam döngüsü değerlendirmesi (LCA-Life Cycle Assessment) çerçevesindeki bir biyorafineri yaklaşımı, biyokütle kaynaklarının üretim ve kullanımına sürdürülebilir prensipleri entegre etmeyi içerir. Bu yaklaşımın temel amacı, ürünlerin ve süreçlerin tüm yaşam döngüsü boyunca kaynak verimliliğini maksimuma çıkarmak, atık oluşumunu minimize etmek ve çevresel etkileri azaltmaktır. Ancak, her ülkede biyorafineri teknolojilerinin seçimi atığın özelliklerine göre yapılmalıdır. Gelişmekte olan ülkelerde kurulan atık biyorafinerileri enerji üretimi, arazi koruma, yeni işletmelerin oluşumu, sera gazı emisyonlarının azaltılması ve doğal kaynakların korunması gibi faydalar sağlayabilir. Ancak, biyorafineri konseptinin başarılı uygulanması için yaşam döngüsü değerlendirmesi çalışmalarıyla karşılaşılan zorluklar göz önünde bulundurulmalıdır [10].

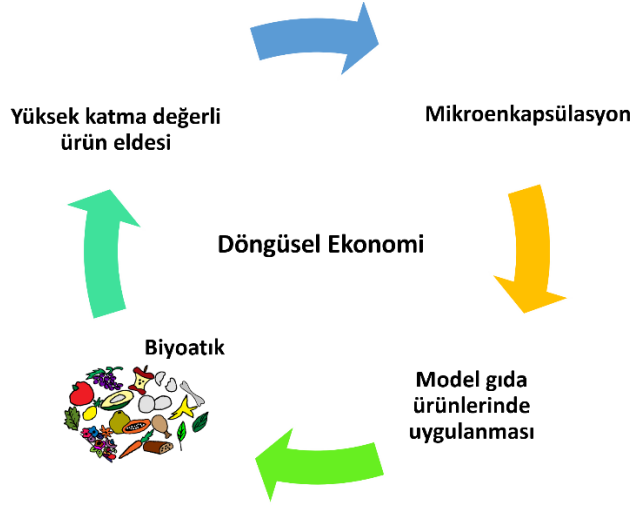
2.1.1. Döngüsel Ekonomi Konsepti

Döngüsel Ekonomi fikri, 1970'lerden 1980'lere kadar üretim süreçlerinin gözden geçirilmesi ve endüstriyel metabolizma ile endüstriyel ekoloji kavramlarından esinlenerek ortaya çıkmıştır. 1990'ların ortalarında, döngüsel ekonomi kavramı popülerleşmiş ve endüstriyel süreçlerin birikmiş çevresel etkisinin azaldığı lineer ekonomiye karşı bir yaklaşım olarak çerçevelenmiştir [13].

Mevcut lineer ekonomi modeli, ürünlerin üretildiği, tüketiciler tarafından kullanıldığı ve daha sonra atıldığı bir yaklaşımı temsil eder. Bu model, sınırsız doğal kaynak arzını ve çevrenin atık ve kirliliği absorbe etme kapasitesinin sonsuz olduğunu varsayar. Ancak küresel talep arttıkça, kaynak talebindeki hızlı artış, çevresel doğal kaynakların aşırı kullanımına ve tükenmesine yol açar. Bu durum da daha yüksek kaynak maliyetlerine, enflasyona ve piyasa dalgalanmalarına sebep olur. Bu süreç kaçınılmaz olarak üretimden tüketici kullanımına kadar atık miktarında önemli bir artışa neden olur ve genellikle depolama sahalarına yönlendirilir. Sonuç olarak, çevremiz atık imhası kapasitesine yaklaştıkça, lineer ekonomi uygulanabilir bir model olmaktan çıkar [14].

Mevcut lineer ekonominin aksine döngüsel ekonomi kavramı, ekonomik büyüme ile kaynak tüketimi arasındaki bağı koparıldığı, doğal kaynakların azaltılması ve yeniden kullanımı yoluyla sürdürülebilir bir ekonomik modeli temsil etmektedir. Bu model, doğal kaynakların azaltılması ve yeniden dolaşımını teşvik eden bir sistem oluşturulmasıyla elde edilir [15]. Yani, daha az kaynak tüketimi ve kaynakların yeniden kullanımıyla ekonomik büyüme sağlanabilir, böylece doğal kaynaklar daha sürdürülebilir bir şekilde yönetilebilir.

Son dönemdeki popülaritesine rağmen, döngüsel ekonomi, yetersiz hükümet desteği nedeniyle kitleleri harekete geçirmek ve sürdürmek için yetersiz kalmıştır. Piyasa ve endüstriyi döngüsel ekonomiye doğru ilerlemeye teşvik etmek için sinerjik politika temelli müdahalelere ihtiyaç vardır. Ekonomik, sosyal ve çevresel hedefler arasında denge sağlama önemi, sürdürülebilirlik anlayışını zayıflatabilir. Burada hem döngüsel ekonomi hem de biyoekonomi sürdürülebilir bir gelecek için mekanizmalar olarak işlev görmektedir [13].

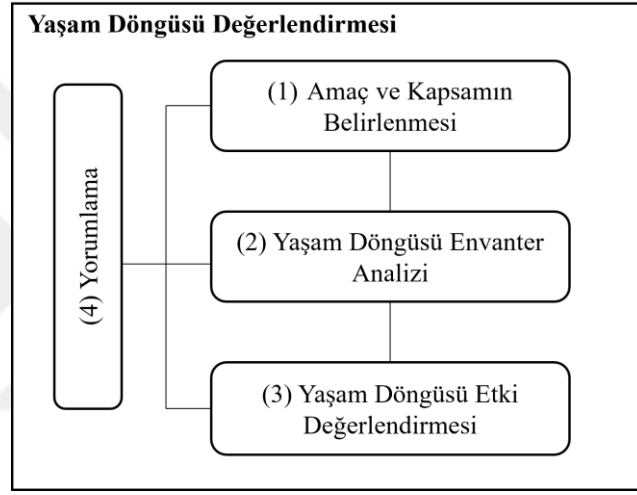


Şekil 2.3: Biyoatıklara uygulanan döngüsel ekonomi konseptinin şeması.

Sıfır atık biyorafinerilerinin, topluma ve ekonomiye doğrudan fayda sağlayarak etkili bir döngüsel biyoekonomi geliştirmesi beklenir [16]. Döngüsel ekonominin biyoatıklarla ilişkisi, bu atıkların atılmak yerine geri dönüştürülerek değerli ürünlere dönüştürülmesini içerir. Biyoatıkların dönüşümü, temel aşamalardan oluşur. İlk aşamada, biyoatıklardaki çeşitli bileşenler ayrıştırılarak gruplandırılır; bu adım, organik maddelerin yanı sıra proteinler, yağlar ve lifler gibi özgün bileşenlerin tanımlanmasını içerir. Sonrasında, ayrılan biyoatıklar kimyasal veya biyokimyasal yöntemlerle işlenir. Bu aşama, atıkların içerisindeki yüksek katma değerli bileşenlerin açığa çıkmasını sağlar. Dönüşümün bir sonraki evresi, işlenmiş biyoatıkların tekrar kullanılması ve yeni ürünlerin oluşturulmasıdır. Bu süreçte biyoatıklar, biyoplastiklerden biyoenerji kaynaklarına, bitkisel ilaçlardan kozmetik ürünlere kadar farklı ürünlerin üretiminde kullanılabilir. Son olarak, dönüşümün artık kısımları yönetilir. Geride kalan artıklar, enerji üretiminde kullanılabileceği gibi, diğer endüstrilerin hammadde ihtiyacını karşılamak amacıyla da kullanılabilir. Bu şekilde dönüşüm tamamlanır ve biyoatıklar, döngüsel ekonominin içindeki rolünü daha da güçlendirmiş olur. Bu bağlamda, biyoatıklardan ekstraksiyon yoluyla elde edilen yüksek katma değerli biyoaktif maddelerin enkapsülasyonu, atık materyallerin sadece atılmadığı ve değerli bileşenlerinin geri kazanıldığı, daha sonra koruma altına alındığı ve model gıda ürünlerinde tekrar kullanıldığı bir yaklaşımı temsil eder (Şekil 2.3). Bu yöntem, sadece atık miktarını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda değerli bileşenlerin bozulmasını engeller ve ekonomik değeri artırır.

2.1.2. Yaşam Döngüsü Değerlendirmesi

Yaşam Döngüsü Değerlendirmesi (LCA-Life Cycle Assessment), bir ürünün tüm yaşam döngüsü boyunca (kaynak çıkarma ve üretimden imhaya kadar) meydana gelen potansiyel çevresel etkilerini değerlendirmek için standartlaştırılmış bir yöntemdir. Kapsamlı bir değerlendirme yapmak için genellikle farklı çevresel göstergeler göz önünde bulundurulur (ISO, 2006a, 2006b). LCA, Şekil 2.4'te gösterildiği gibi dört temel adımdan oluşmaktadır. Bu adımlar şunlardır: (1) amaç ve kapsamın belirlenmesi, (2) yaşam döngüsü envanteri, (3) yaşam döngüsü etki değerlendirmesi ve (4) (1)'den (3)'e kadar olan aşamaların yorumlanması [17].



Şekil 2.4: Yaşam döngüsü değerlendirmesinin metodolojik genel bakışı.

Amaç ve kapsamın belirlenmesi, çalışmanın nedenlerini, amaçlanan uygulamayı ve hedeflenen izleyiciyi açıklamayı içerir (ISO, 2006a). Bu aşama aynı zamanda çalışmanın sisteminin sınırlarını çizer ve fonksiyonel birimi belirler. Fonksiyonel birim, malzemelerin (veya hizmetin) sağladığı işlevlerin nicel bir ölçüsüdür. Yaşam döngüsü envanter analizi sonucunda, ürünün yaşam döngüsü boyunca girdilerin ve çıktıların fonksiyonel birime göre derlemesi yapılır. Yaşam döngüsü etki değerlendirmesi, incelenen sistemin potansiyel çevresel etkilerinin büyüklüğünü ve önemini anlamayı ve değerlendirmeyi amaçlar (ISO, 2006a). Yorumlama aşamasında, önceki aşamalardan gelen bulgular, amaç ve kapsamla karşılaştırılarak sonuçlara ve önerilere ulaşılır (ISO, 2006a) [18].

Atık biyorafinerileri, tekli veya çoklu atık akışları/biyolojik kaynaklara dayalı modeller için çok süreçli ve çok ürünlü sistemler kullanır. Ayrıntılı tasarım fizibilite çalışmaları sırasında atık biyorafinerileri için LCA yapılması çok önemlidir. Doğumdan ölüme bir analiz olan LCA, ham

madde çıkarılmasından imha/geri dönüşüme kadar tüm aşamalardaki girdi ve çıktı malzemeleri ile enerji akışlarını dikkate alarak çevresel etkileri değerlendirir. LCA, optimize edilmiş süreçler ve daha fazla çevresel ve ekonomik faydalar için LCA metodolojilerini geliştiren son araştırmalarla, süreç veya ürün sürdürülebilirliğini değerlendirmek için bir ölçüm aracı olarak hizmet vermektedir [10].

Tarımsal atıkların çevresel etkilerini anlamak ve sürdürülebilir tarım uygulamalarını geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalar, literatürde önemli bir yer tutmaktadır. Bu bağlamda, LCA yöntemi, tarımsal atıkların çevresel etkilerini objektif bir şekilde değerlendirmek ve çeşitli senaryoları analiz etmek için etkili bir araç olarak kullanılmıştır. Aşağıda, LCA yönteminin tarımsal atıkların çevresel etkilerini değerlendirmek için nasıl uygulandığına dair bazı örnekler verilmiştir:

- Khounani ve diğ. tarafından yapılan çalışma, zeytin yapraklarının LCA ile çevresel etkisinin nasıl değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, zeytin yaprağı özütünün üretim sürecinin çevresel etkisi incelenmiş ve çeşitli ekstraksiyon yöntemlerinin çevresel etkileri karşılaştırılmıştır [19].
- Longo ve diğ. tarafından yapılan çalışmada, organik ve geleneksel elma çeşitlerinin LCA ile enerji ve çevresel performans etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışma, farklı tarım yaklaşımlarının çevresel etkilerini karşılaştırmayı amaçlamıştır [20].
- Ahanchi ve diğ., fıstık kabuğu özütünün biyodizeldeki antioksidan etkisinin ve sentetik bir antioksidan olan propil gallatın çevresel ve sağlık etkilerini LCA ile karşılaştırmıştır [21].
- Kritsotakis ve diğ. tarafından yürütülen bir diğer çalışmada, enzimatik olarak modifiye edilmiş enkapsüle zeytin yaprağı özünün üretim zincirinin çevresel etkileri, LCA yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu zincir, ham madde ediniminden toz üretimine kadar on bir aşamayı içermektedir. Çalışmanın ana amacı, sadece genel çevresel etkiyi değil, aynı zamanda süperkritik akışkan ekstraksiyon ve katı-sıvı ekstraksiyon gibi iki farklı ekstraksiyon tekniğinin çevresel etkiye katkılarını karşılaştırmaktır. Ayrıca, bu tekniklerin farklı koşullarının etkisi de incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, ekstraksiyon veriminin genel çevresel etki üzerinde belirleyici olduğunu göstermiştir. Katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi, etanol kullanılarak uygulandığında düşük çevresel etki sağlayarak toplu üretim için önerilirken, süperkritik akışkan ekstraksiyon tekniği (yardımcı çözücü ile birlikte) endüstri için uygun bir alternatif olarak görülmüştür. Süperkritik akışkan tekniğinde

yardımcı çözücü kullanımının artırılması, genel çevresel etkiyi azaltmada etkili bir rol oynamıştır [22].

2.2. Mikroenkapsülasyon Teknolojisi

1932 yılında, enkapsülasyon tekniği ilk kez A. Boake, Roberts and Co, Ltd. Şirketi tarafından, püskürterek kurutma yöntemi ile aroma tozlarının gam arabik ile kapsülleme işlemi için kullanılmıştır [23]. Mikroenkapsülleme tekniğini kullanarak piyasaya sürülen ilk ticari ürün ise Amerikan NCR tarafından 1953 yılında piyasaya sürülmüştür [24].

Enkapsülasyon yöntemi kullanılarak üretilen kapsüllerin çapı 0.2 μm 'den küçükse, bu nanoenkapsülasyon olarak adlandırılır. 0.2-5000 μm arasında ise bu mikroenkapsülasyon olarak kabul edilirken, 5000 μm 'den büyükse bu makroenkapsülasyon olarak tanımlanır [23].

Mikroenkapsülleme, katı, sıvı ve gaz halindeki malzemelerin, içeriklerini uzun süre boyunca kontrollü oranlarda serbest bırakan küçük kapsüllerde ambalajlama teknolojisi olarak tanımlanabilir [4]. Bu yöntem, özellikle probiyotikler, mineraller, vitaminler, fitosteroller, lutein, yağ asitleri, likopen ve antioksidanlar gibi biyoaktif bileşiklerin gıdalara eklenmesini kolaylaştıran etkili bir yöntemdir. Gıda endüstrisinde kullanılmak üzere çeşitli mikroenkapsülleme teknolojileri geliştirilmiş ve bu akıllı materyaller fonksiyonel gıda üretimi için umut vermektedir. Ayrıca, bu teknolojiler, biyoaktif bileşenlerin gastrointestinal sistem tarafından etkili bir şekilde emilimini teşvik edebilir [4].

Mikroenkapsülleme, iç kısım ve dış kısım arasındaki etkileşimleri kontrol edebilen bir mikro çevre oluşturan polimerik bir matrisin gömme etkisine dayanır [25]. Biyoaktif bir materyalin kapsüllenip bir gıda ürününe katılması için aşağıdaki kriterleri göz önüne almak teknolojik açılardan önemli olacaktır:

- Formülasyonlarda gıda sınıfı kimyasallar kullanılarak yeşil teknolojilerden yararlanılmalıdır [26].
- Biyoaktif bileşikler gıda ürününe dahil edildiğinde yüksek fizikokimyasal kararlılığa ve ürünün organoleptik özellikleri üzerinde minimum etkiye sahip olmalıdır [27].
- Kapsüllenmiş malzeme diğer gıda bileşenleri ile etkileşime girmemeli ve sıcaklık, ışık veya pH nedeniyle bozulmaya karşı korunaklı olmalıdır [28].

Günümüzde, çeşitli fiziksel, fizikokimyasal ve kimyasal mikroenkapsülleme teknikleri mevcuttur [29] (Şekil 2.5) ve elde edilen mikroenkapsüllenmiş ürünler gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde ve aynı zamanda kişisel bakım, tarım ürünleri, veterinerlik, endüstriyel kimyasallar, biyoteknoloji, biyomedikal ve sensör endüstrileri gibi çeşitli diğer alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Elde edilen parçacıklara iç yapıya veya matrise göre sırasıyla mikroenkapsüller veya mikroküreler denir. Mikropartiküller, boyutu yaklaşık 1 µm ile 1 mm arasında değişen katı, sıvı veya gaz halindeki bir aktif madde içerebilir. 1 nm'den 1 µm'ye kadar daha küçük boyuta sahip partiküller nanopartiküller, nanokapsüller ve nanoküreler olarak adlandırılır [30]. Literatürde biyoaktif bileşiklerin mikroenkapsülasyonu için çeşitli teknikler önerilmiş olsa da, tüm biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonu veya farklı kapsülasyonu sistemlerinin geliştirilmesi için bir standart olarak kabul edilebilecek ve evrensel olarak uygulanabilecek tek bir yöntem yoktur [31].

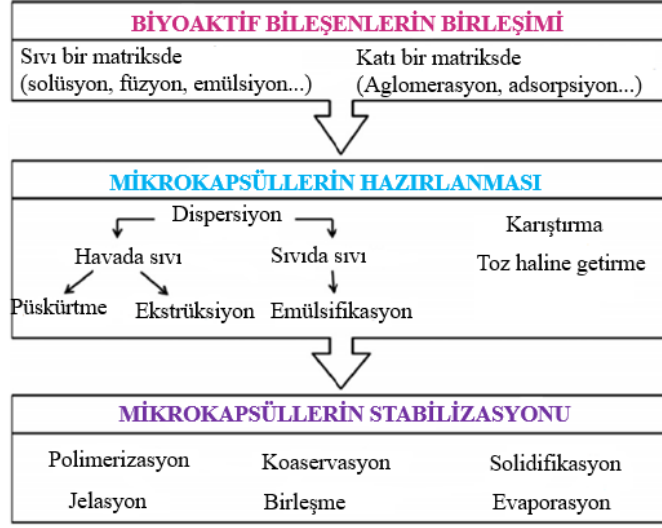


Şekil 2.5: Mikroenkapsülleme teknolojileri.

Enkapsülasyon işleminde mikrokapsül içerisindeki aktif madde; çekirdek, dolgu veya iç faz olarak ifade edilirken, kaplama malzemesi, duvar materyali, dış faz, membran, kapsül, matris, taşıyıcı veya kabuk olarak adlandırılmaktadır [32].

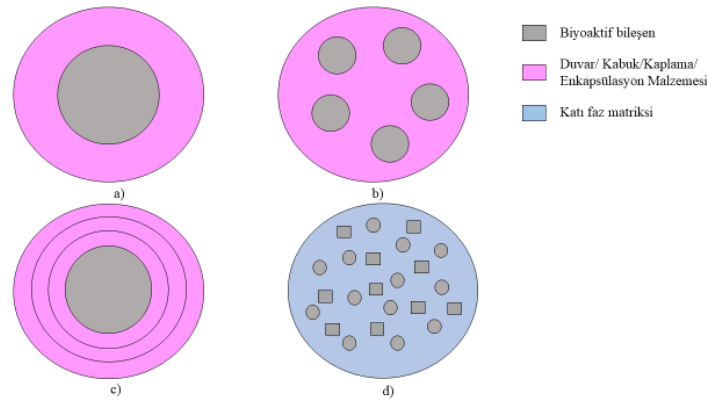
Mikroenkapsülasyon teknolojisi Şekil 2.6'da görüldüğü üzere genellikle üç adımda gerçekleştirilmektedir. İlk adım, biyoaktif bileşeni sıvı veya katı olabilen bir matris içine dahil

etmeyi içerir. Çekirdek sıvı ise, dahil etme işlemi matris içinde çözünme veya dağılma şeklinde olacaktır; ancak çekirdek katı ise, dahil etme işlemi birleşme veya adsorpsiyon şeklinde gerçekleşecektir. İkinci adımda, sıvı matris disperse olurken, katı matris üzerinde bir çözelti toz haline getirilir. Son adım, kimyasal (polimerizasyon), fizikokimyasal (jel oluşumu) veya fiziksel (buharlaştırma, katılaşma, birleşme) bir işlemle stabilizasyonu içerir [33].



Şekil 2.6: Mikro kapsül üretim adımları.

Aktif madde ve duvar malzemesine ve bunların hazırlanmasında kullanılan tekniğe bağlı olarak farklı formlarda mikrokapsüller meydana gelmektedir. Genel olarak, çekirdek-kabuk tipi olan kapsüller ve matris tipi küreler olmak üzere iki form söz konusudur. Birinci tipte, çekirdek malzeme, bir kabuk (sıvı veya katı) içine alınmış sürekli bir faz oluştururken, matris tipi malzeme, homojen bir katı faz matrisi içinde homojen olarak dağılmış aktif bileşiklere sahiptir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Farklı mikrokapsül tipleri: **a)** basit çekirdek-kabuk veya kapsül, **b)** çok çekirdekli kapsül, **c)** çok duvarlı yapı ve **d)** matris tipi veya küre [29].

Mikroenkapsülleme için polisakkaritler (nişastalar, maltodekstrinler, Arap zıkkı ve mısıır şurupları), lipitler (mono- ve digliseritler) ve proteinler (kazein, süt serumu ve jelatin) gibi farklı türlerde kapsülleme malzemeleri kullanılmaktadır [34]. Bunlara ilaveten, lifli bileşikler (pektin, inülin, β -glukan vb.), gamlar (aljinat, karagenan), selüloz türevleri ve çevre dostu biyopolimerler (kitosan, gluten, kanola protein izolatu) gibi mikrokapsülasyon için duvar materyali olarak kullanılabilen malzemeler bulunmaktadır [35].

Uygun duvar malzemesinin (kapsülleme ajanı) seçimi, aktif bileşiklerin kapsüllenmesi için son derece önemli bir faktördür. Bu malzeme, çekirdek maddeyi bozulmadan korumalı, gerekli mekanik dayanıma sahip olmalı, gıda ürünü ile uyumlu olmalı, kontrollü salınımına izin vermeli ve/veya ürününkilerle uyumlu termal özelliklere sahip olmalıdır [29]. Ayrıca, çekirdek malzemenin tadına, görünüşüne, biyoyararlılığına ve reolojisine negatif bir etkide bulunmamalıdır [36].

Gıda katkı maddeleri için düzenlemeler, örneğin ilaçlar için olanlardan daha katıdır. İlaç kapsülasyonu için genellikle kabul gören farklı bileşikler, gıda endüstrisinde kullanım için onaylanmamıştır, çünkü bu maddelerin birçoğunun "Genellikle Güvenli Olarak Kabul Edilen" (GRAS) malzemeler olarak gıda uygulamaları için sertifikaları bulunmamaktadır. Aslında, gıda sürecinin tamamı, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) gibi hükümet kurumlarının güvenlik gereksinimlerini karşılamak için tasarlanmaktadır [32].

2.2.1. Biyoaktif Maddelerin Gıda Alanındaki Önemi ve Mikroenkapsülasyon Teknolojisinin Katkısı

Gıdanın günümüzde yani modern yaşam tarzındaki rolü, açlığı gidermek ve insanlar için gerekli besinleri sağlamak gibi temel beslenme ihtiyaçlarını aşmaktadır. Artık, gıda tüketimi beslenme ile ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tüketicilerin fiziksel ve zihinsel refahının iyileştirilmesine yöneliktir. Yirmi birinci yüzyılda biyoaktif bileşikler, yeni besin takviyelerinin ve fonksiyonel gıda ürünlerinin tasarımını güçlendirerek sağlığa yararlı bir terapötik ajan olarak ortaya çıkmıştır. Biyoaktif bileşiklere ilgi, yeni teknolojilerin geliştirilmesi ve bu maddelerin özelliklerini ve potansiyel uygulamalarını belirlemek için kamuoyu ilgisi ve tüketici talepleri ile birlikte ilerleyen araştırma çabaları ile güçlenmeye devam etmektedir [37]. Biyolojik olarak aktif bileşikler, gıdalarda tipik olarak çok az miktarlarda meydana gelen besinsel olmayan bileşenlerdir. Genel olarak, bu bileşikler milyonlarca bitki, hayvan, deniz organizması ve mikroorganizma türünde bulunur ve çeşitli yöntemlerle (ekstraksiyon ve biyoteknolojik) elde edilebilir. Elde edilen bu yüksek katma değerli bileşenler, söz konusu ürünlerin raf ömrünü,

beslenme kalitesini ve bu malların tüketici kabulünü artırarak yeni fonksiyonel gıdalar üretmek için kullanılabilir. En çok kullanılan biyoaktif bileşikler arasında, nutrasötik maddelere ek olarak antioksidanlar, antimikrobiyaller, probiyotikler ve aromalar bulunur [38]. Biyoaktif bileşikler karotenoidler, flavonoidler, fenolik asitler, glukozinolatlar, diyet lifi, fitosteroller, monoterpenler ve askorbik asit gibi çok aktif moleküller gibi bileşik gruplarını içermektedir. Halen, kullanımları ve tüketimleri tüketiciler ve araştırmacılar arasında artan bir ilgiyle devam etmektedir. Zira çalışmalar bu değerli maddeleri insan sağlığı üzerinde sayısız faydalar (kanser, kardiyovasküler hastalık ve yaşa bağlı fonksiyonel düşüş gibi kronik hastalıklarda) ile ilişkilendirmektedir [39]. Sonuç olarak da bu özel fitokimyasal maddelerin kullanımı beklenildiği üzere farmasötik, kozmetik ve gıda uygulamalarına yöneliktir. Biyoaktif bileşiklerin gıda ürünlerine katılması, gıdaların korunmasında birçok avantaj sağlar ve fonksiyonel gıdaların gelişimine katkıda bulunur [40, 41]. Bu alanda, bu bileşikler gıdasal ürünlerin raf ömrünü ve besin kalitesini arttıran ve tüketici kabulünü artıran fonksiyonel gıdalar oluşturmak için kullanılır [42].

Ek olarak, bu bileşikler antioksidatif (fenolikler), antimikrobiyal (uçucu yağlar), probiyotik ve aromatik gibi fonksiyonel özelliklere de sahiptirler [43]. Fakat şunu da unutmamak lazımdır ki bu doğal ürünlerin direkt olarak ürünlere uygulanması ürünün tadının bozulmasına ve ayrıca biyoaktif bileşenin fonksiyonunun kaybına (hızlı bozunmaya eğilim) yol açabilir [44]. Ayrıca, gıda matrisindeki diğer bileşenlerle etkileşime girerek fonksiyonel gıda ürünlerinin kalitesinde düşüşe de neden olabilir.

Kısacası, gıdaların modern endüstriyel üretimi, lezzet, renk, doku veya koruma özelliklerini uyarlamak için fonksiyonel bileşenlerin eklenmesini içerirken, en son trendin antioksidanlar ve probiyotikler gibi potansiyel sağlık yararları olan biyoaktif bileşiklerin dahil edilmesi olduğunu söyleyebiliriz. Fakat, doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif bileşiklerin stabilitesi, çeşitli gıda sistemlerine başarılı bir şekilde dahil olabilmeleri için kritik bir parametredir. Yani vitaminler, probiyotikler, mineraller, polifenoller, omega-3-yag asitleri ve fitosteroller gibi sağlığa faydaları olan biyoaktif bileşikler oksijene, ışığa, ısıya ve suya duyarlıdır [4].

Dolayısıyla bu dış faktörler söz konusu ürünün raf ömrünü ve biyoaktif bileşenin üründeki biyolojik olarak faydalarını sınırlamaktadır. Daha açık bir şekilde ifade edecek olursak, biyoaktif bileşikler, lezzetsiz, renksiz veya kanserojen bileşikler gibi bozunma ürünleri oluşturuyorsa, takviye edilmiş ürünün raf ömrü sınırlı olacaktır. Bu nedenle, işleme ve depolama sırasında bazı bileşiklerin stabilitesinin sağlanması zorunludur. Ayrıca, oral olarak

tüketildikten sonra, biyolojik bileşenler hızlı bağırsak ve ilk geçiş metabolizmasına maruz kalır, bu da kimyasal yapının dönüşümüne ve biyoaktivitelerinde değişikliklere neden olur. Bu nedenle, gastrointestinal sistemde stabiliteyi sağlamak ve uygun hedefte kontrollü bir salınmaya izin vermek avantajlıdır. Bu nedenlerle, gıda endüstrisi, gereksinimleri yerine getirirken, aynı zamanda, gelişmiş ürünlerin organoleptik ve kalitatif özellikleri üzerinde minimum etki sağlayarak gıda ürünlerini faydalı biyoaktif bileşiklerle zenginleştirmek için çözümler aramaktadır. Kapsülleme, yukarıda bahsedilen sorunların çoğunun üstesinden gelmek için güçlü bir araçtır, çünkü çok çeşitli bileşiklerin koruyucu bir matrise gömülmesi yoluyla korunmasını sağlar [37]. Ayrıca, kapsüllenmiş biyoaktif bileşiklere olan ilgi, gıda maddelerinin fiziksel özelliklerini, örneğin reolojik özellikleri değiştirme ve bileşenler, örneğin biyoaktif bileşikler ve gıda matrisleri arasındaki çözünürlük uyumsuzluklarının üstesinden gelme olasılıklarına dayanmaktadır [45].

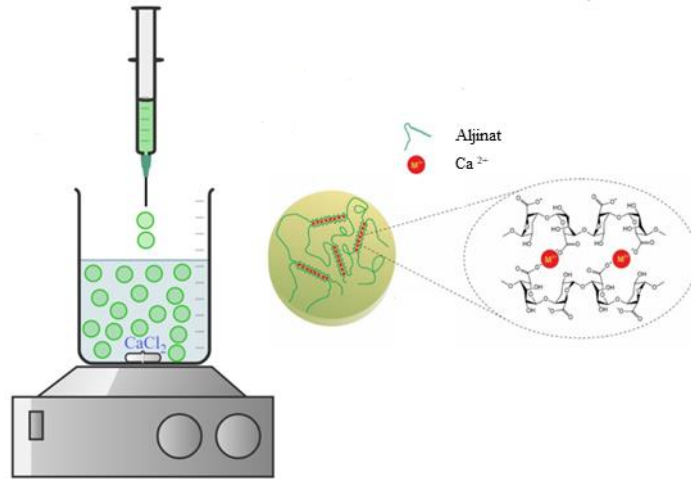
Diğer taraftan, yenilebilir kaplamalar, birçok yiyeceğin raf ömrünü uzatarak nem ve çözünen göçü, gaz değişimini ve oksidatif reaksiyon oranlarını kontrol edebilir. Ayrıca, yenilebilir kaplamalar, antioksidanlar, antimikrobiyaller, tatlar ve probiyotikler gibi gıda ürünlerinin kalitesini artırmak için biyoaktif bileşiklerin taşıyıcıları olarak kullanılabilir. Bu yaklaşımlar, işlevsel bir ürün sağlamanın yanı sıra raf ömrünü uzatmak için de yararlı olabilir. Yenilebilir kaplamalar biyoaktif bileşikleri tutan bir matris olarak kullanıldığında dikkate değer faydalar ortaya çıkar; biyoaktif bileşikler çevreden korunur ve kontrollü salımlara izin verilir. Ayrıca, kötü kokular ve tatlar maskelenebilir. Çünkü, birçok fenolik bileşenin, gıda maddelerine veya ağızdan ilaçlara dahil edilmeden önce maskelenmesi gereken hoş olmayan bir tadı vardır [30]. Yenilebilir bir kaplama, bir yiyeceğin yüzeyine uygulanan, nem, oksijen, karbon dioksit, aroma, lipidler ve diğer çözünenlerin göçüne karşı bir bariyer sağlayan ince bir yenilebilir malzeme tabakası olarak tanımlanır [43]. Ayrıca, söz konusu kaplamaların daha ileri bir yenilikçi uygulamaları olan biyoaktif bileşiklerin kapsülleyici matrisleri gıda ürünlerinin kalitesini arttırmak ve kontrollü salım (biyoaktif bileşiklerin istenen bir zamanda ve belirli bir hızda sunulması stratejisi) sağlamak için kullanılabilir. Bu uygulama sadece raf ömrünü uzatmak ve gıda yüzeylerinde patojen büyüme riskini azaltmak için değil, aynı zamanda tüketiciye sağlık yararları olan fonksiyonel bir ürün sağlamak için de çok özel bir araçtır. Dolayısıyla, yenilebilir kaplamalarla kapsülleme, biyoaktif bileşiklerin gıda katkı maddeleri olarak kullanımının dezavantajlarını çözebilecek umut verici bir tekniktir.

2.2.2. İyonik Jelleşme ile Enkapsülasyon

Mikrokapsülleri hazırlamak için geliştirilen çeşitli yöntemler arasında iyonik jelleşme, kararlı parçacıkların oluşumu için hafif, basit ve organik çözücüsüz bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım, kitosan gibi pozitif yüklü polimerler ile pentasodyum tripolifosfat gibi polianyonlar arasındaki etkileşime dayanmaktadır. İyonik jelleşme, yüksek sıcaklıklar ve toksik çapraz bağlama maddeleri gerektirmeden moleküller arası çapraz bağların oluşumunu sağlayan, aerobik ve anaerobik koşullar altında uygulanabilen, ucuz bir yöntemdir [33, 46]. Aynı zamanda, enkapsüle edilen aktif malzemenin (çekirdek) miktarını ve membran kalınlığını kontrol etmeyi sağlar [47]. İyonik jelleşme yöntemi laboratuvar ölçeğinde kolayca uygulanabilirken, büyük miktarlarda mikrokapsül üretmek ise daha karmaşık ve maliyetli bir süreç haline gelir [33].

Kapsülleme ilkesi, basitçe bir aktif maddeyi hapsedmekten ve onu dış uyaranlara yanıt olarak jel faz değişiklikleri yoluyla serbest bırakmaktan oluşur. Hidrokolloid jel partikülleri veya hidrojel boncuklar, biyoyumlulukları, özellikle de doğal malzemeler olarak algılanmaları ve yumuşak katı dokuları nedeniyle biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonu veya gıda, farmasötik, probiyotik, tıbbi ve kozmetik ürünlerde yapının kontrolü için kullanılırlar. İyonik polimerizasyon veya polielektrolit iyonik bağlanma ile oluşturulurlar. İyonik jelleşme veya iyonotropik jelleşme olarak adlandırılan süreç, ters yüklü polielektrolitlerle etkileşime giren, reaksiyona giren ve çözünmez bir jel oluşturan düşük moleküler kütleli iyonlarla sulu polimerik bir çözelti ile başlar [48].

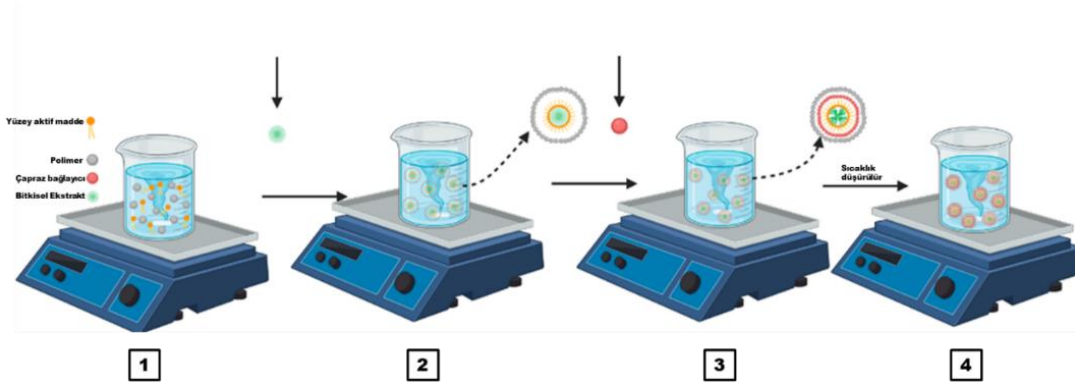
Bu yöntem, aljinat, kalsiyum iyonlarının varlığında fiziksel bir jel oluşturacağı için sıklıkla aljinat mikro boncuklar oluşturmak için kullanılmaktadır. Bu mikro boncukları oluşturmak için, aljinat çözeltisi ile aktif madde homojen bir şekilde karıştırılmakta ve bu karışımın her bir damlası, jelleşmenin meydana geldiği ve boncukların sertleştiği bir kalsiyum klorür çözeltisi banyosuna enjekte edilmektedir [49]. Şekil 2.8’de iyonik jelleşme yöntemi ile kalsiyum ve sodyum iyonları arasındaki etkileşim şematik olarak gösterilmiştir. Sodyum aljinat ve kalsiyum klorür çözeltileri bir araya geldiğinde, sodyum iyonları hızla kalsiyum iyonlarına geçer ve bu süreç jelleşmeyi başlatır [32].



Şekil 2.8: İyonik jelleşme yöntemi ile kalsiyum ve sodyum iyonlarının etkileşimi.

Kalsiyum iyonlarının miktarına bağlı olarak, polimer zincirleri arasındaki etkileşimler geçici veya kalıcı olabilir. Düşük kalsiyum seviyeleri, geçici bağlar ve yüksek viskoziteli çözeltiler oluştururken, yüksek kalsiyum seviyeleri kalıcı bağlar ve çökme veya jel oluşumu sağlar. Kalsiyum konsantrasyonu, jel yapısını belirleyen önemli bir faktördür ve düşük konsantrasyonlarda jelin geri dönüşümlü olduğu, yüksek konsantrasyonlarda ise kalıcı olduğu gözlenir [50].

Şekil 2.9’ da ise duvar malzemesi, ekstrakt, çapraz bağlayıcı ve yüzey aktif madde ile olabilecek iyonik jelleşmenin şematik bir diyagramı gösterilmektedir. Birinci adımda yüzey aktif madde ve polimer karıştırılır. İkinci adımda bitkisel ekstrakt eklenir ve mikroenkapsülleri oluşturmak için karıştırılır. Bu adımdan sonra, çapraz bağlayıcı (kırmızı daire ile temsil edilir) eklenir ve duvar malzemesinin (polimer) pozitif yüklü grupları ile en son yerleştirilen negatif yüklü polianyon grupları arasında elektrostatik bir etkileşim meydana gelir [31].



Şekil 2.9: İyonik jelleşmenin şematik diyagramı.

Püskürtmeyle kurutmada farklı olarak bu yöntemde çapraz bağlayıcılar ve yüzey aktif maddeler de kapsülleme ajanlarının içerisinde girmektedir. Çapraz bağlanma olasılığı, mikroenkapsüllerin oluşumu için önemli bir avantajı temsil etmektedir. Çapraz bağlama, polimer yapı birimlerinde bulunan spesifik reaktif bölgeler ve bazı çapraz bağlama reaktifleri arasındaki reaksiyon yoluyla polimer zincirlerinin bağlanmasını amaçlayan bir kimyasal modifikasyondan oluşur. Mekanik direnç, şişme, geçirgenlik, kimyasal ve termal stabilite gibi özelliklerin yanı sıra kapsüllenmiş maddenin salım hızı, çapraz bağlamadan oldukça etkilenir [51]. Diğer taraftan, yüzey aktif maddelerin kullanımı, formülasyonları stabilize edebilir. Glutaraldehit, genipin, tripolifosfat, tanik asit, transglutaminaz ve sitrik asit en fazla kullanılan çapraz bağlayıcılardır. En yaygın yüzey aktif maddeler ise Span (20 ve 80), sodyum dodesil sülfat ve Tween (40 ve 80)' dir.

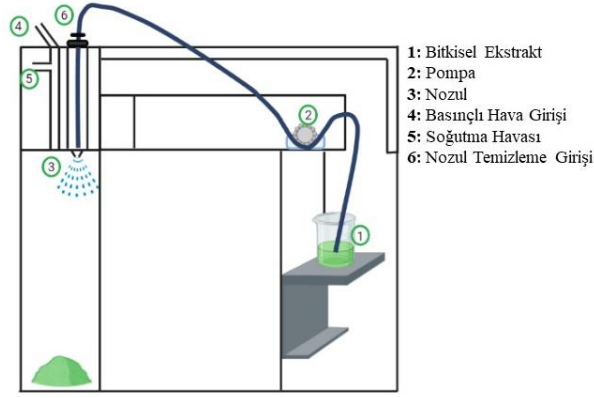
Yapılan pek çok araştırma göstermiştir ki hidrofilik biyoaktiflerin kapsüllemesi hidrofobik olanlardan daha zordur. Dolayısıyla, genel olarak jel partiküllerine polimerlerin eklenmesi, kapsülleme verimliliğini artırmaktadır [52]. López Córdoba ve diğ., nişasta ile doldurulmuş kalsiyum aljinat boncuk içinde kapsüllenmiş Paraguay çayı polifenollerinin kapsülleme verimliliğinde %55'ten (nişastasız kontrol numunesi) %65'e bir gelişme gözlemişlerdir [53]. Benavides ve diğ., kekik uçucu yağın iyonik jelleşme ile kalsiyum-aljinat mikro küreler içinde kapsüllemiştir [54]. Mikroküreler boyut, şekil, kapsülleme verimliliği, yükleme kapasitesi ve antimikrobiyal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen mikroküreler, özellikle gram-pozitif bakterilerde önemli antimikrobiyal etki göstermiştir. Yine aynı metodun kullanıldığı bir çalışmada, iyonik jelleşme ile *Hibiscus sabdariffa* elde edilen antosiyaninlerin kapsüllemesi iyi sonuçlar göstermiştir [55]. Antosiyaninin kinetik parametreleri ve renk bozulması belirlenip Arrhenius modeline uydurulmuştur. Kapsüllenmiş antosiyaninler, soğutma sıcaklıklarında depolandıklarında daha yüksek stabilite göstermiştir. Kabuk malzemesi olarak düşük metoksil pektini kullanarak iyonik jelleşme ile keten tohumu yağının kapsüllemesi gerçekleştirilmiştir [56]. Bu zahmetsiz teknik ile püskürtmeyle kurutma gibi en yaygın yöntemlere kıyasla keten tohumu yağının oksidasyonunu önlediği gözlenmiştir. Başka bir çalışmada da polifenol bakımından zengin suda çözünmeyen bileşenler elde etmek için yeşil çay ekstraktı tozunun iyonik jelleşme mikropartiküllerinde kapsüllemesi değerlendirilmiştir [57]. Serbest ve mikroenkapsüllü ekstraktın antioksidan kapasitesinde bir farklılık gözlemlendiğinden, mikropartiküllerde taşınması çekirdek için koruma sağlayabilir, yeşil çayda bulunan acı/buruk aromaları maskeleyebilir ve beslenme/biyolojik öneriler için polifenollerin kontrollü salınımına izin verebilir. *Stevia rebaudiana* ham özütünün iki aljinat

karışımı içinde iyonik jelleşme ile kapsüllenmesinin değerlendirildiği bir çalışmada, her iki aljinat karışımının, çapraz bağlanma koşullarından bağımsız *Stevia rebaudiana* ekstraktlarının taşıyıcı sistemleri olarak uygun olduğu gösterilmiştir [58]. Bu yöntemle elde edilen antosiyanince zengin *Hibiscus sabdariffa* mikroenkapsülleri bir gıda maddesi olan yoğurda uygulanarak, söz konusu ürünün depolama sırasında etkin bileşenlerin bozulmasını önleyip önlemediği gözlemlenmiştir [59]. Mikropartiküller, yoğurt matriksi raf ömrü boyunca antosiyaninlerde ve renkte daha fazla stabilite göstermiştir.

2.2.3. Püskürtmeli Kurutma ile Enkapsülasyon

Mikroenkapsülleme süreçleri arasında, fiziksel bir yöntem olan püskürtmeyle kurutma başarılı bir endüstriyel kurutma tekniği haline gelmiştir. Zira düşük işletim maliyeti, suyun çok hızlı bir şekilde buharlaştırılması, uygulama ve ölçekleme kolaylığı, sürekli üretime izin vermesi ve en önemlisi de elde edilen ürünün son derece kararlı olması gibi avantajları bulunmaktadır [60]. Bu teknik, ilaç veya gıda bileşenlerini bozunmaya ve uçucu kayıplara karşı korumanın etkili bir yoludur. Koruyucu mekanizma, kapsüllenmiş malzemenin damlacıklarını veya parçacıklarını çevreleyen bir zar duvarının oluşumundan oluşur. Püskürtmeyle kurutma ile kapsülleme ilkesi, sıvı besleme kuru ve kararlı bir forma dönüştürülürken, aktif bileşenleri koruyucu bir dış tabaka içinde tutma kabiliyetiyle ilgilidir.

Püskürtmeli kurutma sırasında, sıvı beslemesi ısıtılmış bir nozuldan pompalanır ve basınçlı hava kullanılarak küçük damlacıklar halinde atomize edilir. Damlacıklar bir kurutma bölmesine püskürtülür. Duvar ve çekirdek bileşenleri arasındaki kurutma özelliklerindeki fark bu kapsülleme prosesini yönetmektedir. Doğasında bulunan film oluşturma özelliklerinden dolayı, duvar bileşeni, bir besleme çözeltisi elde etmek için çekirdek malzemenin süspanse edildiği ortama (genellikle su) göre çok daha hızlı kurur. Bu sebeple duvar malzemesi çekirdeği içeren damlacık çevresinde bir kaplama oluşturabilir [29]. Püskürtmeli kurutucunun şematik diyagramı Şekil 2.10'da gösterilmektedir.



Şekil 2.10: Püskürtmeli kurutucu şematik diyagramı.

Püskürtmeli kurutma yönteminde taşıyıcı malzeme son derece önemlidir ve ayrıca şu özelliklere sahip olmalıdır: iyi bir emülgatör olmalı, stabil bir emülsiyon oluşturmalı, uygun çözünme özellikleri sergilemeli, ağ oluşturma yeteneğine sahip olmalı ve yüksek konsantrasyonlarda düşük viskoziteli çözeltiler oluşturmalıdır [37]. Duvar malzemesinin seçimi dışında duvar malzemesi/aktif malzeme oranı, hava giriş ve çıkış sıcaklıkları ve aspirasyon hızı gibi diğer önemli işlem koşulları da dikkate alınması gereken unsurlardır. Yüksek sıcaklık gibi işlem parametreleri, ürün veriminde azalmaya ve fenolik bileşenlerin kaybına neden olabilir [61].

Sağlamış olduğu çeşitli avantajlarından ötürü birçok araştırmacı bitkisel özütlerden mikropartiküller üretmek için püskürtmeli kurutma tekniğini kullanmıştır. Krishnaiah ve diğ. bu tekniği, karragenan ve maltodekstrini bağlayıcı olarak kullanarak *Morinda citrifolia* L. mikropartiküllerini içeren mikroenkapsülleri üretmek için kullanmışlardır [62]. E vitamini ve provitamin A, kırmızı biber yan ürünlerinden süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile geri kazanılmıştır [63]. Mikroenkapsülleme, ekstrakte edilen vitaminlerin stabilitesini arttırmak için kullanılan bir yöntem olduğundan, kırmızı biber ekstraktı duvar malzemesi olarak Arap zıncı kullanılarak püskürtülerek kurutulmuştur. Tatar Turan ve diğ., püskürtmeyle kurutma kullanarak yaban mersini mikrokürelerini başarıyla hazırlamışlardır [64]. Başka bir çalışmada, nar kabukları ve tohumları, Box-Behnken istatistiksel deneysel tasarımı kullanılarak süperkritik CO₂ yöntemi ile ekstrakte edilmiş ve ardından elde edilen ekstrakt merkezi kompozit tasarım uygulanarak püskürtmeli kurutma ile enkapsüle edilmiştir [65]. Barbados kirazı atıklarından biyoaktif bileşikler ekstrakte edilip, Arap zıncı ve maltodekstrin karışımı kapsülleme maddesi olarak kullanılarak mikroenkapsülendirilmiştir [66]. Püskürtmeyle ve dondurarak olmak üzere iki türlü kurutma uygulanmıştır. Biyoaktif maddelerin mikroenkapsülleme etkinliğinin, püskürtülerek kurutulmuş tozda daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yani, püskürtmeyle

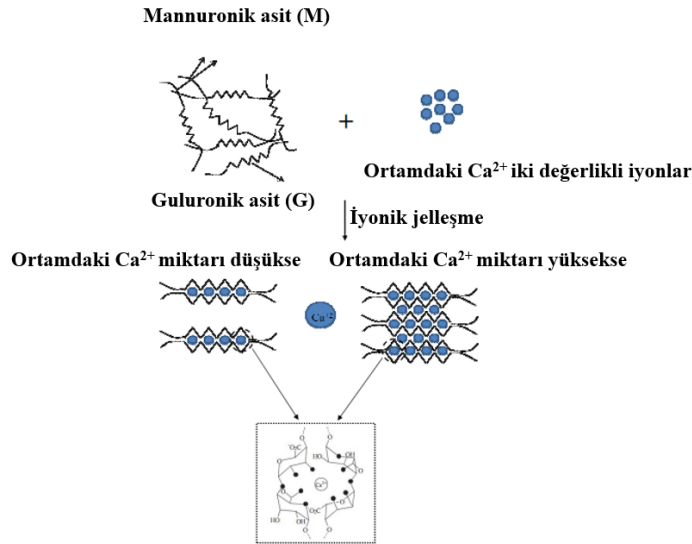
kurutulmuş toz, daha yüksek biyoaktif madde konsantrasyonu ve antioksidan aktivite göstermiştir. Tamarillo suyundan elde edilen antosiyaninler ve karotenoidler gibi hidro- ve lipo-çözünür biyoaktif bileşikler, yine püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsüllemişlerdir [67]. Abrahão ve diğ. aynı mikroenkapsülasyon yöntemini kullanarak, espressoda harcanan kahveden biyoaktif bileşiklerin mikroenkapsüllemesini gerçekleştirmişlerdir [68]. Kahvede bulunan ve içeceğin hazırlanmasından elde edilen atıklardan ekstrakte edilen önemli miktarlardaki antioksidan özelliği olan fenolik bileşiklerden elde edilen mikropartiküller, potansiyel olarak bir gıda veya farmasötik bileşen olarak kullanılabilir. Diğer taraftan, bu potansiyel doğal katkı maddeleri, fonksiyonel yönleri olan yenilikçi ürünlerin formülasyonunda kullanılabilir. Yaban mersininden ekstrakte edilen antosiyanin bileşiklerini içeren mikroenkapsüller, farklı sıcaklıklarda (120, 140 ve 160 °C) farklı oranlarda kapsülleme ajanları olarak maltodekstrin ve nişasta kullanılarak püskürtülerek kurutulmuş ve iyi kapsülleme etkinliği göstermiştir [69]. Ayrıca, bu çalışma göstermiştir ki mikroenkapsülleme, kapsüllememiş özütü karşılaştırıldığında bu biyoaktif bileşiklerin simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında salınımında daha etkilidir. Bu çalışma, mikroenkapsüllemenin, antosiyanin bileşiklerinin gıda endüstrisinde uygulanmasını sağlayarak, stabilitesini artırmak için uygun bir yöntem olduğunu göstermektedir. Corrêa-Filho ve diğ. püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsüllemeyi, gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılmak üzere domates yan ürünleri gibi çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen aktif bileşiklerin stabilize edilmesinde kullanmışlardır [70]. Arap zıkkı ve inülin, domates posası ekstraktının püskürtmeli kurutma ile kapsüllemesinde iyi bir performans sergilemiştir. Üretilen kapsüllerin, çeşitli kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip gıda sistemlerine dahil edilmek için iyi bir potansiyele sahip olduğu yine aynı çalışma ile raporlanmıştır. Navarro-Flores ve diğ., maltodekstrin ve geleneksel olmayan duvar malzemelerinin (Arap zıkkı, *Cajanus cajan* zıkkı, kakao kabuğu pektini, *Cajanus cajan* proteini ve soya proteini) kombinasyonları ile fenolik bileşikler açısından zengin bir doğal bitki (*Crotalaria longirostrata* yaprakları) özütünü püskürtmeli kurutma ile kapsüllemişlerdir [71]. Tarçın özütü, sağlık için birçok yararlı etkiye sahip olan polifenolik bileşikler olan zengin bir proantosiyanidin kaynağıdır. Bununla birlikte, bu özüt, güçlü bir tat ve acılık sunar, burukluk hissine neden olur ve bileşikler bozulabilir. Bu bağlamda, Brito de Souza ve diğ., seylan tarçını ekstraktını kapsülleme malzemeleri olarak jelatin ve beş polisakkarit (Arap zıkkı, pektin, kaju ağacı zıkkı, karboksimetilselüloz ve κ -karragenan) kullanarak kapsüllemişlerdir. Elde ettikleri kapsüllemiş ve kapsüllememiş özütleri bir gıda ürünü olan dondurmalarda uygulamışlardır [72]. Polimerik çiftler olan jelatin/ κ -karragenan ve

jelatin/kaju sakızı, ekstrakt bileşiklerinin daha fazla stabilitesini sağlamıştır. Başka bir püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonun incelendiği bir çalışmada, mikrodalga-destekli ekstraksiyon ile elde edilen üzüm posası ekstraktı, duvar malzemeleri olarak peynir altı suyu proteini izolatu, Arap zıncı ve pektin karışımları ile dispersiyonlar kullanılarak kapsüllenmiştir [73]. Ayrıca, söz konusu çalışmada *in vitro* simüle edilmiş gastrointestinal sindirim gerçekleştirilerek biyoaktif bileşiklerin kontrollü salınımı da değerlendirilmiştir.

2.2.4. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri

2.2.4.1. Aljinat

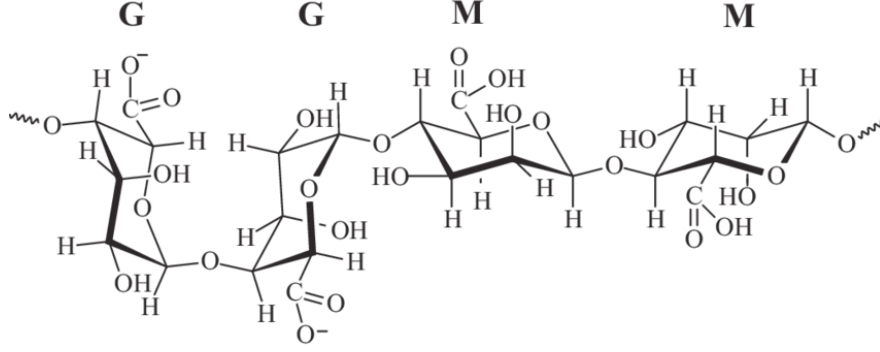
Aljinat, doğal bir iyonik polisakkarittir. Genellikle kahverengi algler, kahverengi deniz yosunları ve bakterilerin hücre duvarlarından ekstrakte edilir. Aljinat, β -D-mannuronik asit (M-blok) ve α -L-guluronik asit (G-blok) monomerlerinden oluşur ve bunlar β -(1-4) glikozidik bağı ile birbirlerine bağlıdır [74]. Aljinatın en önemli özelliklerinden biri, çeşitli amaçlar için hidrojellerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan çift değerli katyonların varlığında (örneğin Mg^{2+} , Ca^{2+} , Str^{2+} , Ba^{2+} vb.) neredeyse sıcaklıktan bağımsız bir sol/jel geçişine girebilme yeteneğidir. Bu jelleşme süreci geleneksel olarak iki değerlikli iyonlar ile guluronik kısımların karboksil grubu arasındaki güçlü ve spesifik etkileşimlerin sonucu olan "yumurta kutusu" modeliyle tanımlanır (Şekil 2.11) [74, 75].



Şekil 2.11: Yumurta kutusu modeli.

Aljinatın yapısındaki M ve G blokları farklı sıralamalarda bulunabilir. Şekil 2.12’de görüldüğü üzere, bu bloklar, ardışık G kalıntılarından (GGGGGG), ardışık M kalıntılarından (MMMMMM) ve sırasıyla M ve G kalıntılarından (GMGMGM) oluşur. [76]. Bu farklı blok

düzenlemeleri, aljinatın kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkiler ve farklı uygulamalarda kullanılabilirliğini belirler. Farklı kaynaklardan elde edilen aljinatlar, M ve G içerikleri ile her bir bloğun uzunluğu da dahil olmak üzere farklılık göstermektedir [77].



Şekil 2.12: Aljinattaki G bloğu, M bloğu ve alternatif bloğun kimyasal yapıları.

Monomerlerin özel şekilleri ve polimer içindeki bağlama şekilleri, G-blok bölgelerinin, M-blok bölgelerinin ve alternatif bölgelerin geometrilerini oldukça farklı kılar. Özellikle, G-blokları bükülmüş bir yapıya sahipken, M-blokları geniş bir şerit şeklinde bir yapıya sahiptir. İki G-blok bölgesi yan yana geldiğinde, elmas şeklinde bir delik ortaya çıkar. Bu delik, kalsiyum iyonlarının karşılıklı olarak bağlanması için ideal boyutlara sahiptir. Bu özellik, aljinatın kalsiyum iyonları ile etkileşime girebilen ve jel oluşturabilen bir polimer olmasını sağlar. Aljinat, gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılır; jel oluşturma yeteneğinin yanı sıra kıvam arttırıcı, emülgatör ve stabilizatör olarak da görev yapar. Ek olarak, FDA tarafından genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS) bileşikler grubunda yer almaktadır [50].

Aljinatın sadece G-bloklarının, çift bağlı iyonlar (örneğin, Ca^{2+}) ile etkileşerek hidrojelleri oluşturmak için katıldığına inanılmaktadır. Kompozisyon (yani, M/G oranı), sıralama, G-blok uzunluğu ve moleküler ağırlık, aljinatın fiziksel özelliklerini ve sonuçta oluşan hidrojellerin özelliklerini etkileyen kritik faktörlerdir. Aljinat jellerin mekanik özellikleri genellikle G-blok uzunluğunu ve moleküler ağırlığı artırarak geliştirilir. Farklı aljinat kaynaklarının farklı kimyasal yapılar sağladığına dikkat etmek önemlidir (örneğin, Azotobacter tarafından üretilen bakteriyel aljinat, yüksek konsantrasyonda G-bloklara sahiptir ve jelleri nispeten yüksek sertliğe sahiptir. Fiziksel özellikler, jellerin stabilitesini, jellerden ilaç salınım hızını ve aljinat jeller içinde kapsüllenmiş hücrelerin fenotipini ve işlevini önemli ölçüde kontrol eder [77].

Ticari olarak aljinat geniş bir viskozite aralığında mevcuttur ve bu nedenle jelleştirici madde olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Jelleşme oranları ve jel kuvveti, polimerik zincir içindeki G bloklarının oranına ek olarak çözeltideki Ca^{2+} veya H^+ konsantrasyonuyla kontrol

edilebilir. Aljinat jel yapısı asidik pH'da nispeten stabil olsa da, hafif alkali koşullar altında kolayca şişebilir ve dağılabilir [78]. Aljinat düşük sıcaklıklarda jel oluşturduğu için, yüksek sıcaklıklarda hasar görebilecek veya okside olabilecek gıdaların (örneğin et ürünleri, meyve ve sebzeler gibi) işlenmesi ve korunmasında etkili bir malzeme olarak kullanılmaktadır [79].

Literatürde, küresel boncuklar üretmek için gereken minimum aljinat konsantrasyonunun 15 g/L olduğu bildirilmektedir. Çoğu durumda, 20 g/L'nin üzerindeki konsantrasyonlar, yüksek viskoziteye sahip olması ve Newton olmayan davranış göstermesi nedeniyle kullanılmamıştır. Ayrıca, yüksek aljinat konsantrasyonlarının çok yüksek viskoziteye sahip olması nedeniyle pompalanması zorlaşır ve bu konsantrasyonlar boncuklarda bazı şekil deformasyonlarına neden olabilir [75].

2.2.4.2. Arap zımkı

Arap zımkı, film oluşturma yeteneği, suda çözünme yeteneği, düşük viskozite, uçucu bileşenleri iyi tutma ve emülsifiye özellikleri gibi avantajlara sahip olduğu için enkapsülasyon süreçlerinde sıklıkla tercih edilmektedir. Bu özelliklerin tümü, Arap zımkının içinde bulunan küçük bir protein fraksiyonundan ($\pm 5\%$) kaynaklanmaktadır. Ancak, uygulamaları yüksek maliyet, sınırlı bulunabilirlik (300g/bitki/yıl) ve safsızlıkların varlığı gibi bir dizi faktör nedeniyle sınırlıdır.

Bununla birlikte, Arap zımkının özelliklerini daha da geliştirmek ve enkapsülasyon süreçlerini iyileştirmek için karbonhidratlarla, özellikle de maltodekstrinlerle birleştirilen yaklaşım, daha fazla popülerlik kazanmıştır. Maltodekstrinlerin düşük maliyeti ve çeşitliliği, Arap zımkının olumlu özellikleriyle birleştğinde, duvar malzemesi formülasyonlarında büyük bir esneklik sağlar [80]. Maltodekstrin ve Arap zımkı karışımları, birçok gıda bileşeninin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda duvar malzemesi olarak geniş bir şekilde kullanılmıştır [81].

2.2.4.3. Maltodekstrin

Maltodekstrin, nişastanın asit ve/veya kontrollü enzimatik hidrolizi ile elde edilir ve α -(1,4) ve α -(1,6) bağlarıyla birleşen D-glukoz polimerleri olarak kabul edilir. Maltodekstrin, biyoaktif bileşiklerin püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bu kullanımın nedenleri arasında yüksek çözünürlüğü, yüksek katı konsantrasyonlarında düşük viskozitesi, düşük maliyeti, nötr tat ve aroma, termal stabilitesi, donma stabilitesi, asidik koşullarda stabilitesi, renksiz çözelti oluşturma yeteneği, suda iyi çözünürlüğü, su içinde partiküllerin çözünürlüğüne katkı sağlama yeteneği, çekirdek

malzemelerini oksidasyondan koruma yeteneği ve gıda sistemlerindeki yapışma ve aglomerasyon sorunlarını önemli ölçüde azaltma gibi özellikler yer almaktadır [82, 83].

Maltodekstrin genellikle kurutma sırasında ve depolama sırasında higroskopisiteyi arttırma, camsı geçiş sıcaklığını ve mikroenkapsülasyon verimliliğini artırma amacıyla eklenir. Ancak, maltodekstrinin düşük emülsiyon yeteneği vardır. Dayanıklı bir emülsiyon oluşturmak için genellikle diğer duvar malzemeleriyle karıştırılır. Bu malzemeler arasında Arap zıkkı, modifiye nişasta, peynir altı suyu proteini, kazein, inulin vb. bulunur [82]

2.2.4.4. Kitosan

Kitosan, kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarından elde edilen kitinin deasetilasyonu ile oluşan pozitif yüklü lineer bir polisakkarittir. pH 6'nın altındaki sularda çözünür ve aljinata benzer şekilde iyonotropik jelleşme ile bir jel oluşturur [84]. Kitosan, D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinin β -(1,4) glikozidik bağlarla bağlandığı bir yapıya sahiptir [31]. Kitosan fiziksel ve kimyasal olarak biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen, toksik olmayan ve antimikrobiyal aktivite özelliklerine sahiptir. Kitosan, kabuk özelliklerini iyileştirmek için diğer polisakkaritler veya proteinlerle birlikte veya tek başına, gıda işleme, biyomedikal ve ilaç, atıksu arıtma ve tekstil gibi birçok uygulamada bir kapsülleme ajanı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3. Fenolik Bileşikler

Dünya genelinde, tanımlanan bitkilerden izole edilen yaklaşık olarak 200000' den fazla farklı kimyasal madde bulunmaktadır. Bu kimyasal maddeler genellikle iki ana grupta sınıflandırılabilir: birincil ve ikincil metabolitler. Birincil metabolitler, hücre bakımı ve temel yaşamsal fonksiyonlar için gereken maddeleri içerirler. Bu grupta yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler bulunur. İkincil metabolitler ise doğrudan fotosentez veya solunum metabolizmasına katılmamalarına rağmen, bitkinin hayatta kalması için hayati öneme sahiptirler. Bu ikincil metabolitler, bitkinin savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynarlar [85].

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitler olup genellikle 8000'den fazla çeşitli yapı içeren önemli bir bileşik kategorisini temsil ederler [86]. Polifenoller olarak da bilinen fenolik bileşikler, en az bir aromatik halkaya birden fazla hidroksil grubunun bağlı olduğu, basit bir molekülden yüksek derecede polimerize olanlara kadar değişebilen çok çeşitli bir grup oluşturan bileşiklerdir. Moleküler yapılarındaki fenol birimlerinin sayısına ve

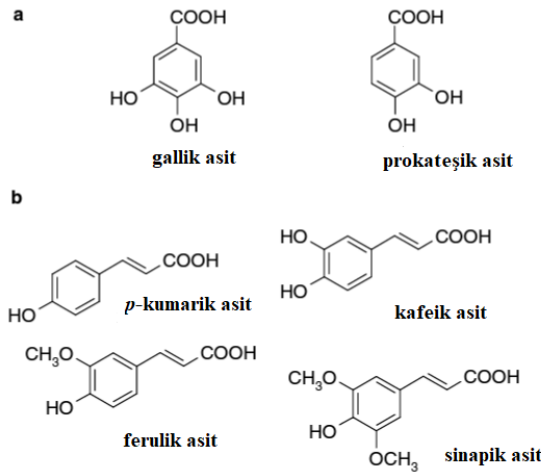
birimleri birbirine bağlayan yapısal elementlere göre bu bileşikler, fenolik asitler, flavonoidler, kumarinler, taninler, stilbenler ve lignanlar olarak gruplandırılır ve sınıflandırılır [87]. Her grup, bileşiklere antioksidan özellikler kazandıran yapısal spesifiklikle ilişkili farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Esas olarak oksijen, nitrojen ve klorun reaktif türlerini temizlemede görev alırlar veya ayrıca metal iyonlarını şelatlayarak oksidatif sürecin hem başlangıç aşamasında hem de ilerlemesinde rol oynarlar [85].

Fenolik bileşikler, bitkilerin çeşitli organlarında bulunurlar ve insan diyetinin önemli bir bileşeni olarak kabul edilirler [88]. Bu bileşiklerin sağlık açısından bir dizi fayda sağladığı ve antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-tümör ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir [89, 90].

Bu bileşikler, birçok meyve, sebze, baklagil, çay, şarap, kahve ve diğer gıdalarda bulunur ve bu gıdalara renk, tat ve duyuşal özellikler kazandırır. Ayrıca, fenolik bileşikler, meyvelerin tükürük glikoproteinleri ile etkileşime girdiklerinde acılık oluşturabilirler ve birçok meyve ve sebzelerin renklerine katkıda bulunurlar [88]. Kanser önleyici, antioksidan, antimikrobiyal gibi sağlık açısından pek çok faydaya sahip olduğu bildirilen bu bileşenlerin çözünürlüğünün düşük olması, hızlı salınımı ve çevresel faktörlere yüksek oranda maruz kalması nedeniyle biyoyararlılığı düşüktür. Bu faktörler de fenolik bileşiklerin kullanımını sınırlamaktadır. Bahsedilen bu kısıtlamalar sebebiyle fenolik bileşiklerin mikro veya nanoenkapsülasyonu çok önemlidir [91].

2.3.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler, meyveler, sebzeler, tahıllar vb. gibi hemen hemen tüm gıda bitkilerinde her yerde bulunur ve çoğunlukla O-glikozitler formundaki karbonhidratlara ester bağlıdır. Fenolik asitlerin en önemli maddeleri arasında, hidroksilasyon ve metilasyon yoluyla sinamik asit veya *p*-kumarik asitten biyosentetik olarak türetilen hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler yer alır [92]. Hidroksibenzoik asitler, gallik, *p*-hidroksibenzoik, protokateşik, vanilik ve sirinjik asitleri içerir; bu asitler genellikle C₆-C₁ yapısına sahiptir. Öte yandan, hidroksisinnamik asitler, üç karbonlu bir yan zincire sahip aromatik bileşiklerdir (C₆-C₃) ve kafeik, ferulik, *p*-kumarik ve sinapik asitler en yaygın olanlarıdır [93]. Hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler arasında en yaygın olanları Şekil 2.13'te verilmiştir. Bu moleküller nadiren serbest formda bulunurlar ve çoğunlukla polifenoller, glikoz, kinik asit veya orijinal bitkinin yapısal bileşenleri gibi diğer bileşenlerle konjugasyon halinde bulunurlar [86].



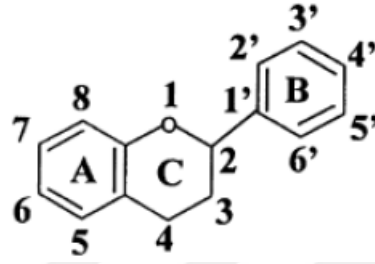
Şekil 2.13: Hidroksibenzoik (a) ve hidroksisinnamik (b) asitlerin örnekleri.

Fenolik asitlerin bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaları nedeniyle, insanlar genellikle günlük beslenmelerinin bir parçası olarak bu bileşikleri tüketirler. Tahmini tüketim aralığı, kişinin beslenme alışkanlıklarına ve tercihlerine bağlı olarak günde 25 mg ile 1 g arasında değişebilir [94]. Gıdalarda enzimatik esmerleşme sırasında oluşan fenolik asitlerin çeşitli reaksiyon ürünleri tat ve renkte istenmeyen değişikliklere yol açabilmektedir. Fenolik asitler kolayca okside olduklarından ve radikal oluşumuna yol açtıklarından, öncelikle diğer radikal bileşenlere karşı oldukça reaktiftirler ve bu da yüksek bir antioksidan kapasiteye neden olur ve bu nedenle yiyecek ve içeceklerde önemli bir katkı maddesini temsil eder [92]. Fenolik asitler, bakteri hücre zarları ile etkileşime geçerek antimikrobiyal aktivite sergilerler. Aynı zamanda kanser hücrelerinin apoptozisini tetikleyebilir ve iltihaplanmayı azaltabilirler. Bunun yanı sıra bağışıklık sistemini destekleyici özelliklere sahiptirler [95].

2.3.2. Flavanoidler

Son yıllarda, doğal bileşiklerin kullanımı ve üretimindeki endüstriyel ölçekte süreçlerin geliştirilmesi için önemli araştırma çabalarına odaklanılmıştır. Bu bağlamda, flavonoidler, doğal polifenolik bileşiklerin bir sınıfı olarak sürekli artan ilgi çekmektedir. Flavonoidler, bitkilerin ikincil metabolitleri olan ve yapılarında bir benzo- γ -piron iskeletini içeren bileşiklerdir [96]. Flavonoidler, bitkiler aleminde vasküler bitkilerde geniş çapta dağılmıştır ve çoğu durumda çiçek hücrelerinin, yaprakların, gövdelerin, köklerin ve meyvelerin boşluklarında glikozitler halinde bulunurlar. Flavonoidlerin temel yapısı, heterosiklik bir piran halkası (C halkası) aracılığıyla bağlanan iki benzen halkasından (aromatik halka A ve aromatik halka B) oluşan on beş karbonlu bir iskelete ($C_6-C_3-C_6$) sahiptir (Şekil 2.14). Bu bileşikler

hayvanlarda, bitkilerde ve bakterilerde çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Oksidatif strese ve dejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlarlar. Bu bileşiklerin antioksidan aktivitesi dikkat çekicidir ve bu aktivite, aromatik halka üzerindeki çok sayıda fenolik hidroksil grupları tarafından sağlanır [86]. Ayrıca, flavanoidler, bitkilerin biyolojik ve biyolojik olmayan çevresel faktörlere yanıt vermesinde temel rol oynar. Örneğin, meyve ve çiçeklerin renklendirilmesine katılırlar, böcekler, bakteriler, mantarlar gibi biyotik stres faktörlerine karşı bitkileri korur ve ultraviyole (UV) ışınlar gibi biyotik olmayan çevresel stres faktörlerine karşı koruma sağlarlar [97].



Şekil 2.14: Temel flavonoid yapısı.

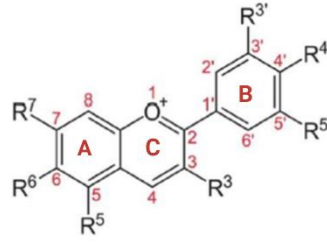
Flavonoidler özellikleri bakımından, beyaz veya sarımsı renkte, katı ve kristal yapıdaki maddeler olarak kabul edilmektedir. Bu bileşikler, sıcak su, alkol ve polar organik çözücülerde çözünürken, nonpolar organik çözücülerde çözünmezler. Fenolik halkaların sayısına, bu halkaları birbirine bağlayan yapısal unsurlara, B aromatik halkasının bağlı olduğu C aromatik halkasının karbonuna, C halkasının oksidasyonu ve doymamışlık derecesine bağlı olarak farklı gruplara ayrılırlar. [86]. Bu farklı sınıflar arasında flavanonlar, flavonlar, izoflavonlar, flavanoller, flavanoller ve antosiyaninler bulunmaktadır. Bu bileşikler, anti-inflamatuar, antioksidan, antiviral, antimikrobiyal, antikanser, kardiyoprotektif ve nörokoruyucu gibi çok sayıda biyolojik özelliğe sahiptir. Flavonoidlerin biyolojik etkileri, tıp, farmasötik, kozmetik, gıda ve besin takviyeleri endüstrilerinde artan bir ilgi çekmiştir, bu da flavonoidlerin bu sektörlerdeki potansiyelini daha çekici hale getirmiştir [96].

Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi, reaktif oksijen türlerini (ROT) yakalayarak, antioksidan enzimlerin aktivasyonunu destekleyerek, oksidazların (örneğin, ksantin oksidaz [XO], siklooksijenaz [COX], lipojenaz ve fosfoinositit 3-kinaz [PI3K]) inhibisyonunu sağlayarak ve α -tokoferil radikallerinin azaltılması yoluyla serbest radikallerin neden olduğu hasarı önleyebilir. Flavonoid antioksidan aktivitesi, oksidatif stresi hafifletmek için ürik asit

seviyelerini artırabilir, metal bağlama aktivitesini ve düşük molekül ağırlıklı antioksidan aktivitesini artırabilir [97].

2.3.3. Antosiyaninler

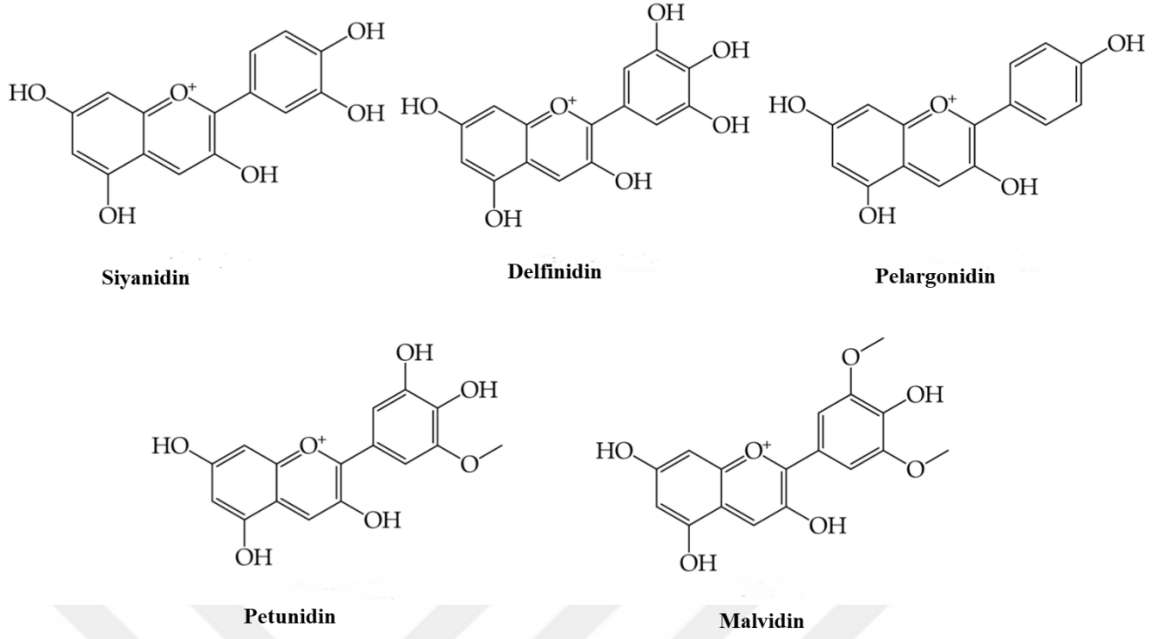
Antosiyaninler, bazı meyve ve sebzelerin, özellikle yaban meyveleri, kiraz, erik, patlıcan, kırmızı lahana, üzüm, çay, bal, fındık, turp gibi bazı meyve ve sebzelerin mavi, mor ve kırmızı renklerinden sorumlu olan suda çözünen doğal pigmentlerdir. Yapraklar, kökler, gövdeler, çiçekler ve meyveler de dahil olmak üzere tüm bitki dokularında bulunabilirler. Renkleri pH'ye bağlıdır: güçlü asit koşullarında kırmızı olurken, pH yükseldikçe mavi pigmentlere dönüşürler. Antosiyaninlerin yoğunluğu ve stabilitesi pH, sıcaklık, pigmentlerin konsantrasyonu, metal iyonları, enzimler, şekerler, oksijen ve yapı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır [86, 96]. Şekil 2.15'te, antosiyaninlerin temel moleküler yapısı görsel olarak verilmiştir.



Şekil 2.15: Temel antosiyanin yapısı

Bu sınıf flavilyum (2-fenilkromenilyum) iyonuna karşılık gelen, C halkasının oksijen atomunda pozitif yüke sahip olan heterosiklik halkalarında iki çift bağın varlığıyla diğer flavonoidlerden ayrılır. Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozillenmiş biçimleridir ve farklı yapılar, B halkasındaki hidroksilasyon ve metoksilasyon modellerinden ortaya çıkar. Bu flavonoid grupları, antioksidan ve antikanserojen aktiviteleri nedeniyle insan sağlığına faydalı olarak kabul edilir ve gıda takviyeleri olarak bulunurlar [86].

Antosiyaninler, nöroinflamasyonu baskılama yeteneği ve antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, antitümör aktivite ve bağışıklık fonksiyonunu destekleme yeteneği nedeniyle doğal terapötik bileşikler olarak ilgi odağı haline gelmiştir. En yaygın antosiyaninler siyanidin, delfinidin, pelargonidin, petunidin ve malvidindir (Şekil 2.16) [96].



Şekil 2.16: En yaygın antosiyanin örnekleri.

2.3.4. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi

2.3.4.1. Serbest Radikaller

Oksijen, aerobik organizmaların hayati bir bileşenidir ve enerji üretiminde kullanılır. Hücreler oksijeni enerji üretimi için kullandığında, mitokondriler tarafından ATP (adenozin trifosfat) üretimi sonucunda serbest radikaller oluşur. Bu yan ürünler genellikle hücresel redoks sürecinden kaynaklanan reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak adlandırılır. Biyolojik olarak önemli ROT' lar, hidroksil, hidroperoksil, peroksil, alkoksil gibi radikalleri içerirken, RNT' ler azot dioksit, nitrik oksit, azid ve diğer birçok radikali içerebilir. Düşük veya orta düzeylerde ROT ve RNT, hücresel tepkilere ve bağışıklık fonksiyonuna faydalı etkiler yapar. Doğal antioksidan sistem savunmaları (enzimatik ve enzimatik olmayan), aşırı miktarda ROT veya RNT üretimi nedeniyle baskı altına alındığında, oksidatif stres oluşur. Bu da tüm hücresel ve hücre dışı makromoleküllere zarar verebilen bir süreçtir. Bu süreç, kanser, otoimmün bozukluklar, yaşlanma, katarakt, romatoid artrit, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik ve dejeneratif hastalıkların gelişiminde büyük bir rol oynar [98].

Serbest radikaller, atomik veya moleküler düzeyde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren ve bağımsız olarak var olabilen moleküler varlıklar veya parçalar olarak tanımlanabilir. Elektronların negatif elektrik yükü, pozitronların pozitif nükleer yüküyle dengelenebilir, bu da nötr bir parçacıkla sonuçlanır; aksi takdirde anyon veya katyon radikalleri elde edilir. Serbest

radikalin eşleşmemiş elektronu, baskın olarak bulunduğu atom veya grup üzerindeki bir nokta ile gösterilir; örneğin $\bullet\text{H}$ (hidrojen atomu), $\bullet\text{OH}$ (hidroksil grubu), $\bullet\text{CH}_3$ (metil grubu) ve $\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$ (etil grubu). Oksijen radikallerinde, genellikle eşleşmemiş elektronlar bir oksijen atomunda bulunur; örnekler arasında süperoksit ($\text{O}_2\bullet^-$), hidroksil ($\bullet\text{OH}$) ve peroksil ($\text{ROO}\bullet$) yer almaktadır. Serbest radikallerin tek sayıdaki elektronları onları kararsız, kısa ömürlü ve son derece reaktif yapar. Bu özellik, zincir reaksiyonlarından sorumludur. Serbest radikaller, kararlı bir bileşik oluşturmak için diğer moleküller, atomlar veya hatta tek tek elektronlarla bağ kurmaya çalışırlar. Oksitleyici veya indirgeyici ajanlar olarak görev yaparak diğer moleküllerden bir elektron bağışlar veya kabul ederler [99].

Serbest radikaller, vücudun doğal metabolik süreçlerinin yanı sıra çevresel faktörlerin (kirlilik, sigara dumanı, radyasyon, ilaçlar) etkisiyle oluşabilen reaktif moleküllerdir. Bu radikaller, hücrelerde oksidatif stresi başlatarak DNA, proteinler ve lipidler gibi biyolojik moleküllerin zarar görmesine sebep olabilir. Vücut, bu oksidatif stresi önlemek ve karşı koymak için antioksidan adı verilen doğal savunma mekanizmalarını kullanır. Antioksidanlar, vücut tarafından doğal olarak üretilebildiği gibi besinlerle veya takviyelerle de alınabilir. Bu nedenle, sağlıklı bir yaşam tarzı ve dengeli beslenme, serbest radikallerin sebep olduğu olumsuz etkileri azaltmada kritik bir öneme sahiptir [98].

2.3.4.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, gıda ve farmasötik ürünlerindeki oksidatif bozulmayı engelleyen ve vücuttaki oksidatif stresle ilişkilendirilen patolojik süreçlere karşı koruma sağlama potansiyeline sahip olan bileşikler olarak bilinirler [100]. Fenoller, bu kategoriye dahil olan güçlü antioksidanlar arasında yer alır. Serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonlar yoluyla biyomoleküllerin, özellikle proteinlerin, nükleik asitlerin, çoklu doymamış lipidlerin ve şekerlerin oksidatif hasarını engellerler. Fenolik bileşiklerin antioksidan gücü, hidrojen veya elektron veren maddeler olarak indirgeyici özellikleriyle ilişkilidir; bu da onların serbest radikal temizleyiciler olarak (antioksidanlar) hareket etme potansiyellerini öngörür; ayrıca, özellikle Fe^{3+} ve Cu^+ gibi metalleri bağlayarak metal katalizli serbest radikal oluşumunu engelleyebilirler [85]. Bu nedenle, antioksidanlar, oksidatif zincir reaksiyonlarını önlemek için çeşitli yöntemler kullanabilirler, bunlar arasında reaktif oksijen türlerinin doğrudan etkisiz hale getirilmesi, enzimlerin inhibe edilmesi ve metal iyonlarının şelasyonu bulunmaktadır.

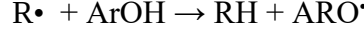
Gıda sistemlerinde antioksidanların kullanımı, gıda ürünlerinin depolama süreçlerinde lezzet, renk ve dokusunun korunmasına ve lipid peroksidasyonunun önlenmesine büyük katkı sağlar.

Bu antioksidanlar ayrıca amino asitlerin azaltılmasında, protein oksidasyonunun kontrolünde ve lipid türevli karbonillerin proteinlerle etkileşiminde önemli bir rol oynarlar. Antioksidanlar, aynı zamanda birçok kronik hastalığın ilerlemesini geciktirebilirler. Son yıllarda gıda antioksidanlarının alternatif doğal ve güvenli kaynaklarının belirlenmesi ve özellikle bitki kökenli doğal antioksidanların araştırılmasına büyük ilgi vardır. Antioksidanlar, oksidasyon reaksiyonlarının radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için gıdalara eklenir ve bu reaksiyonların başlatma ve yayılma aşamalarını inhibe ederek tepkimenin sona ermesine yol açarlar ve oksidasyon sürecini geciktirirler. Bu nedenle, antioksidanlar gıda ürünlerinin duyu ve besinsel nitelikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etki yaratmadan gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada önemli bir rol oynar. Bu nedenle gıda katkı maddelerinin vazgeçilmez bir grubu haline gelmiştir. Ancak gıda sistemlerinde kullanılacak antioksidanlar ucuz, etkili ve düşük konsantrasyonlarda zararsız olmalı; işleme sırasında stabil olmalı; kendilerine özgü koku, tat veya renge sahip olmamalı; ürüne kolayca eklenebilmeli ve üründe iyi çözünürlüğe sahip olmalıdır [100].

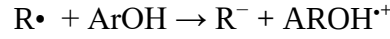
Ancak, fenolik bileşikler gibi doğal antioksidanlar kullanım açısından bazı sınırlamalara sahiptirler. Özellikle düşük stabiliteye sahip olmaları nedeniyle gıda işleme, dağıtma ve depolama süreçlerinde ve tüketim sırasında aktiviteleri azalabilir. Ayrıca, gastrointestinal sistemde (pH, enzimler, diğer bileşenlerin varlığı) etkileri ve biyoyararlılıkları düşük olabilir. Fenolik bileşikler, çevresel faktörlere karşı da oldukça hassas olup, olumsuz çevre koşullarında tat, koku ve görünüm değişikliklerine neden olabilirler. Bu tür zorlukların üstesinden gelmek için mikroenkapsülasyon, fenolik bileşiklerin korunması için alternatif bir etkili yöntem olarak kullanılabilir [30].

Fenoller antiinflatuar, antidiyabetik, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antitümör ve yaşlanma karşıtı özellikler içerirler. Antioksidanların bu özellikleri yerine getirdiği iki ana mekanizma vardır: Serbest radikal inaktivasyonu ve elektron transferi. Birinci mekanizmada serbest radikal (R^*), antioksidandan ($ArOH$) bir hidrojen atomunu çıkarabilir ve bu işlem sonucunda serbest radikal kendisi bir radikal haline gelir. Bu mekanizma H-atom transferi olarak adlandırılır. Antioksidanın ($ArOH$) fenoksil radikal ($ArO\bullet$) halinin daha yüksek bir kararlılığa sahip olması, antioksidanın ($ArOH$) daha etkili olduğu anlamına gelir ve bu nedenle substrat molekülleri ile reaksiyona girmesi olası değildir. Hidrojen bağları, konjugasyon ve rezonans gibi faktörler, fenoksil radikalini reaktif olmayan bir hale getirebilir. Bu mekanizmada, O-H bağının ayrılma entalpisi, antioksidan etkisinin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. O-H bağlarının

bağ ayrışma enerjisi ne kadar düşük olursa, serbest radikalın inaktivasyon reaksiyonu o kadar kolay olur ve dolayısıyla antioksidan etki o kadar büyük olur.



İkinci mekanizmada (tek elektron transferi) ise antioksidan, serbest radikale bir elektron bağışlayabilir ve kendisi bir radikal katyon haline gelebilir. Bu durumda, elektron transferi sonucu oluşan radikal katyonunun kararlı olması gerekir, böylece substrat molekülleri ile reaksiyona girmez. Bu mekanizmada, iyonlaşma potansiyeli ne kadar düşükse, elektron çekme işlemi o kadar kolay olur, yani antioksidan aktivitesi o kadar büyük olur.



Fenoliklerin antioksidan etkisi, hidroksil grubunun (-OH) sayısı ve pozisyonları, çift bağın varlığı (C2=C3), glikozilasyon ve halkalardaki ikame edicilerin varlığı dahil olmak üzere yapı aktivite ilişkisi ile belirlenir [85].

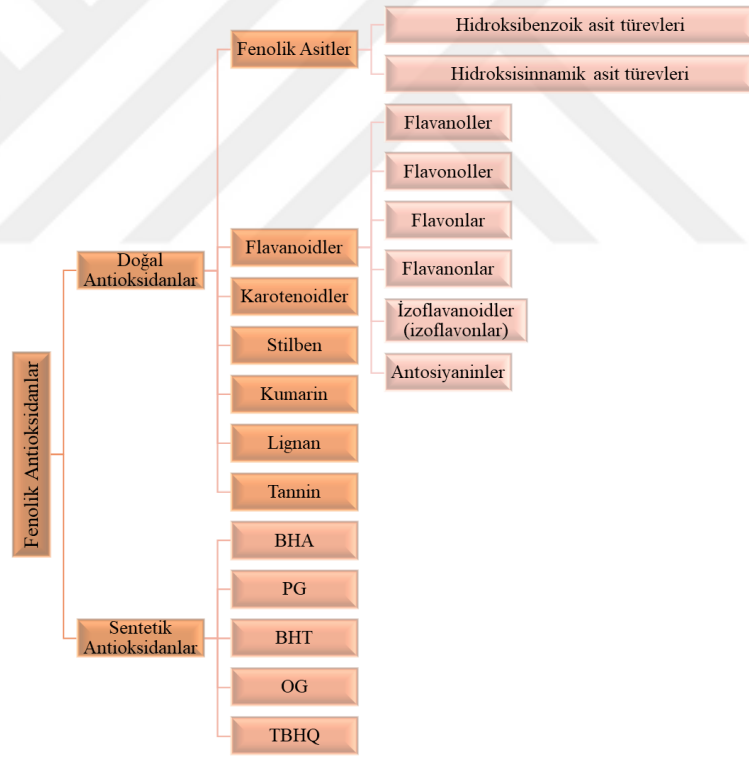
İdeal bir antioksidan, organizma tarafından kolayca emilip alınabilme yeteneğine, serbest radikal oluşumunu engelleme veya söndürme yeteneğine ve fizyolojik düzeylerde redoks metallerini şelatlayabilme yeteneğine sahip olmalıdır. Ayrıca, sulu çözeltilerde olduğu kadar hücre zarları gibi membran sistemlerinde de etkin bir şekilde çalışabilmeli ve gen ekspresyonunu olumlu bir şekilde etkileyebilmelidir [101].

Fenolik antioksidanlar kökenlerine göre sentetik ve doğal olarak sınıflandırılabilirler. Sentetik antioksidanlar, genellikle gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında yağların ve lipid içeren gıdaların oksidasyonunu engellemek veya geciktirmek için kullanılan kimyasal bileşiklerdir. Şekil 2.17’de görüldüğü gibi, bu sentetik antioksidanlar arasında butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT), tert-butilhidrokinon (TBHQ), propil galat (PG) ve oktil galat (OG) gibi fenolik bileşikler öne çıkar. Ancak, bazı sentetik antioksidanların uzun vadeli kullanımının toksik ve kanserojen etkilere yol açabileceği endişeleri nedeniyle kullanımları sıkı düzenlemelere tabidir. Sentetik antioksidanların kullanımı, gıdaların yağ veya yağ içeriğinin %0.02’sini aşmamak kaydıyla iyi üretim uygulama sınırlarına tabidir.

Yaklaşık 1980’den beri doğal antioksidanlar, sentetik antioksidanların bir alternatifi olarak ortaya çıkmıştır. Doğal antioksidanlar ise bitkisel gıdalarda doğal olarak bulunan bileşiklerdir ve serbest radikal hasarını engellemeye yardımcı olurlar. C vitamini, α-tokoferol, karotenoidler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi doğal antioksidanlar, sağlıklı bir alternatif sunarlar. Bu doğal

antioksidanlar, serbest radikallerle etkili bir şekilde savaşarak oksidasyon mekanizmalarını engelleyebilirler. Bu nedenle, gıda uygulamaları için doğal ve daha güvenli antioksidanlara artan bir ilgi vardır ve tüm bunlar antioksidanların doğal kaynaklarını keşfetme girişimlerine ivme kazandırmıştır.

Doğal antioksidanların kaynakları, meyve, sebze, tohumlar, kuruyemişler, yapraklar, kökler ve kabuklar gibi bitkilerin tüm bölümlerinde bulunabilen bitki fenolik bileşikleridir. Bitkiler, normal metabolik süreçlerinde flavonoidler, esansiyel yağlar, alkaloidler, lignanlar, terpenler, terpenoidler, tokofenoller, fenolik asitler, fenolikler, peptidler, çok fonksiyonlu organik asitler gibi birçok sekonder metaboliti üretirler. Bu metabolitler, bitkilerin istenmeyen etkilere karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Doğal antioksidanların çoğunluğu fenolik bileşiklerdir ve doğal antioksidanların en önemli grupları tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitlerdir (şekil 2.17) [100].



şekil 2.17: Fenolik antioksidanların sınıflandırılması.

2.4. Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanması

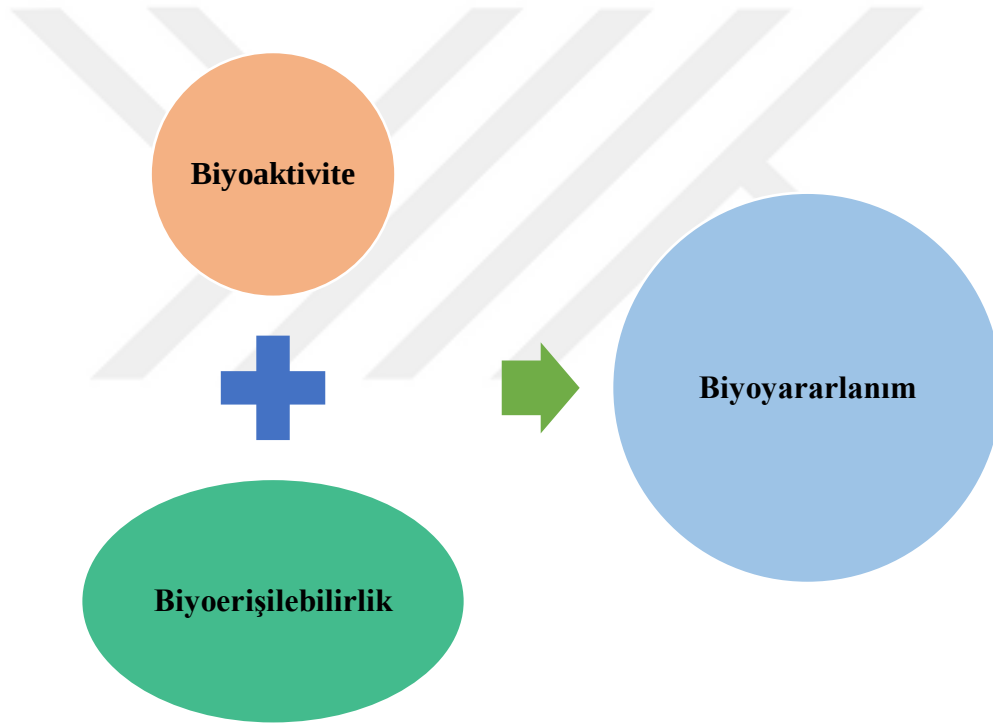
Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki etkileri, esas olarak kanser, kardiyovasküler ve dejeneratif hastalıkların görülme sıklığının azaltılması, antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleri ile ilişkili olması nedeniyle incelenmiştir. Bu bileşikler, moleküldeki konjuge çift bağlardan ve/veya hidroksil gruplarından oluşan bir sistemin varlığı nedeniyle bir elektron veya hidrojen atomu vererek reaktif oksijen ve nitrojen türlerini temizleme kapasitesine sahiptir [102].

Fenolik bileşenlerin midede yeterince kalmaması, geçirgenliğinin düşük olması ve gastrointestinal sistemde stabil olmaması (pH, enzimler) nedeniyle bu bileşenlerin insan vücudundaki biyoyararlanımı normalden düşük kalır. Fenolik maddelerin depolama kararlılığını artırma, biyoyararlanabilirliği ve çözünürlüğü artırma, kontrollü salım sağlama, istenmeyen tat ve aromayı maskeleye gibi birçok faydası olduğu belirtilmektedir [103]. Özellikle biyomedikal ve gıda uygulamalarında başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biri, yani partikülün biyoyararlanımı, uygulama yerinden hedef alanına ulaşabilen miktarı ifade eder. Aynı oranda aktif madde içeren ilaçların etkinliğinin birbirine yakın olması, biyoyararlanımlarının eşit olduğunu gösterir [104]. Daha kesin bir ifadeyle, fenolik bileşenler gibi bir biyoaktif bileşenin biyoyararlanabilirliği, Şekil 2.18’de görüldüğü gibi biyoerişilebilirlik ve biyoaktivitenin kullanımını içerir [105]. Daha spesifik olarak, biyoyararlanabilirlik, biyoaktif bileşenlerin metabolizmada kullanılmasıdır ve gastrointestinal enzimler tarafından sindirimi, ince bağırsaktan emilimi, metabolizmayı, doku dağılımını ve biyoaktiviteyi içerir. Biyoerişilebilirlik, fonksiyonel ürün matrisinden sindirim sistemi yoluyla salınmaya ve emilmeye hazır hale gelen aktif bileşenlerin miktarı olarak tanımlanabilir. Başka bir deyişle, biyoaktif ürün, biyoyararlanabilirlik için biyoerişilebilir olmalıdır [106].

Fenolik bileşiklerin biyoyararlanımı, bağırsaktan alınmaya hazır fenolik bileşenlerin mevcut fraksiyonunu, kan dolaşımına absorbe edilen fenolik bileşenlerin fraksiyonu olan emilimi ve *in vivo* metabolizma için kullanılan dönüşümü ifade eden biyoerişilebilirliği içerir [107]. Aktif bileşiğin epitel hücreleri yoluyla nasıl emildiği net olmasa da, bir fenolik bileşiğin metabolitlerinin, başlangıçtaki gıda bileşiğine kıyasla farklı biyoyararlanım gösterebildiği ortaya konmuştur [108]. Fenolik bileşiklerin vücutta emilimi ince bağırsakta, özellikle duodenum ve jejunumda gerçekleşir. Fenolik bileşenler, ağızdaki tükürük proteinlerinin etkileşimi ile kısmi deglikosilasyon yoluyla fenollere ayrışır. Basit fenolik asitler ve sindirim polifenollerini midede mide enzimleri tarafından meydana gelir. Karaciğer ile konjuge ince

bağırsakta glikozitlerin glikosidazlar tarafından parçalanması ve glukuronidasyonu ve aglikonların dönüşümü meydana gelir.

Esterlerin mikroflora tarafından fermente edilerek parçalanması ve fenolik asitleri ve diğer metabolitleri salması kalın bağırsakta (kolon) gerçekleşir [109]. Fenolik komponentlerin taşınması ve hücre içi geçirgenliği, moleküler ağırlıklardan, lipofilik karakterlerden, stereokimyadan ve yapılarında hidrojen bağlayabilen bir grubun varlığından doğrudan etkilenir [105, 108]. Dolayısıyla, aktif maddenin kontrollü salınımı ve hedefe ulaştırılması, fenolik komponentlerin insan vücudundaki biyoerişilebilirliği ve biyoyararlanımı için önemli bir özelliktir.



Şekil 2.18: Biyoyararlanımın içeriğinin şematik gösterimi.

Fenolik bileşiklerin bir diğer önemli konusu stablitedir. Besinlerin veya biyoaktif bileşiklerin üst gastrointestinal kanala alınmadan önce oksidasyonu önlenmelidir. Gastrointestinal sindirim sırasında biyoaktif bileşikler, birlikte tüketilen diğer gıda bileşenleriyle etkileşimler yoluyla bozulmadan korunabilir, bu da onların biyoerişilebilirliğini etkileyebilir ve bu bileşikleri emilim için daha uygun hale getirebilir [102].

2.5. Model Gıda Ürünlerinde Uygulama

Yaşam standartlarının sürekli iyileştirilmesiyle, insanlar yalnızca yerel yiyecekleri yemeyi değil, aynı zamanda uzakta yetişen ve üretilen yiyecekleri de tadabilmeyi de bekliyorlar. Bununla birlikte, uzun depolama ve nakliye koşullarının, bu ürünlerin tadı ve kalitesi üzerinde büyük bir olumsuz etkisi olması talihsiz bir durumdur. Plastik ambalaj, bu olumsuz etkileri bir ölçüde azaltmış olsa da, plastik ambalaj atıklarının neden olduğu beyaz kirlilik sorunu ve insanların gıda güvenliğini iyileştirmesi, bozunabilir ve yenilebilir, çevre dostu doğal yeşil koruma malzemelerinin geliştirilmesi gıda alanında bir araştırma odağı haline gelmiştir [110]. Bunların arasında yenilebilir mikrokapsül teknolojisi, uygulama ve popülerleştirme açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Bitki özütü mikrokapsüllerinin belirli ürünlere uygulanması Tablo 2.1’de özetlenmektedir. Söz konusu çalışmalar, mikrokapsüllerin gıda uygulamasındaki ana işlevlerinin, esas olarak bitki özütünün etkisiyle ilişkili olabilecek antimikrobiyal ve antioksidan etkiler olduğunu göstermektedir.

Tablo 2.1: Belirli ürünlerde çeşitli bitki özütleri içeren mikrokapsüllerin uygulamaları.

Kaynak	Etkin biyoaktif bileşen	Gıda ürünü	Fonksiyon	Sonuç	Referans
Rezene	Esansiyel yağ	Domuz eti	Antioksidan ve antimikrobiyal etki	Üründeki yağ ve proteinin oksidasyonunu geciktirmiştir.	[111]
Yeşil kahve çekirdeği	Diterpence (kafestol ve kahveol) zengin yağ	Meyve suyu	Oksidatif stabilite	Kapsüller eklenen içecek, kontrol formülasyonu ile karşılaştırıldığında iyi duyu kalite göstermiştir. İlk kez, meyve suyuna bu tarz kapsüllerin dahil edildiği, iyi reolojik ve duyu özelliklere sahip diterpen bakımından zengin bir içeceği teşvik edildiği raporlanmıştır.	[112]
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Antosiyanin	Yoğurt	Antioksidan ve antimikrobiyal etki	Mikropartiküllü yoğurt matrisi, yüksek kabul edilebilir bir görünüm sergilemiştir. Mikropartiküller, yoğurt raf ömrü boyunca antosiyaninlerde ve renkte daha fazla stabilite göstermiştir.	[59]
Deniz topalağı	Karoten	Çörek	Antioksidan etki	Duyu analiz, mikrokapsül içeren keklerin panelistler tarafından tercih edildiğini ve deniz topalak meyvelerinin ne aromasının ne de tadının ürünlerde tespit edildiğini göstermiştir.	[113]

Tablo 2.1 (devamı): Belirli ürünlerde çeşitli bitki özütleri içeren mikrokapsüllerin uygulamaları.

Vişne	Antosiyanin	Fermente süt	Prebiyotik etki	Mikrokapsüllenmiş biyoaktif bileşikler, prebiyotik işlevi yerine getirmiş ve 21 gün boyunca saklama sırasında <i>L. casei</i> probiyotiğinin büyümesini desteklemiştir.	[114]
Kekik	Esansiyel yağ	Karides	Antioksidan etki	Karides etindeki lipid oksidasyon oranı, soğuk depolama sırasında önemli ölçüde engellenmiştir.	[115]
Nar kabuğu	Esansiyel yağ (timol ve γ -terpinen)	Sığır etinden yapılmış köfte	Oksidatif stabilite ve antimikrobiyal etki	Sadece oksidatif çalışmalara değil, aynı zamanda duyuşal değerlendirmeye dayalı olarak, köfte raf ömrü mikropartiküllerle muamele edilmiş numunelerde 15 güne kadar uzatılmıştır.	[116]
Biberiye	Esansiyel yağ	Sığır pırzolası	Antioksidan ve antimikrobiyal etki	<i>S. typhimurium</i> gibi gıda kaynaklı patojenleri azaltmak ve etin raf ömrünü uzatmak için etkili bir araç olarak önerilmiştir.	[117]
Ekiyum tohumu (<i>Echium plantagineum</i> L.)	Omega-3 yağ asitleri	Yoğurt	Oksidatif stabilite	Mikro kapsüllerden ilave edilen yoğurt, kontrol numunesine göre daha iyi oksidatif stabilite göstermiştir.	[118]
Afrika yağ palmyesi (<i>Elaeis guineensis</i>)	Karotenoidlerce zengin yağ	Yoğurt	Oksidatif stabilite	Mikropartiküllerin gıdaya uygulanmasından sonra, karotenoidlerin salınımı azalmış ve salınan bileşikler degrade olmamıştır.	[119]
Karides atığı	Astaksantince zengin lipofilik ekstrakt	Yoğurt	Oksidatif stabilite	Kapsüller, renklendirme kapasitesini değerlendirmek için bir gıda matrisi modeli olarak seçilen sade yoğurtta etkili bir şekilde dağıtılmıştır ve tek tip bir renkte bir ürün vermiştir. Kapsülleme, lipid özütünün renklendirme kapasitesini geliştirmiştir.	[120]
Gac meyvesi	Karotenoidlerce (β -karoten ve likopen) zengin yağ	Yoğurt, pastörize süt ve kek karışımı	Antioksidan ve antimikrobiyal etki	Genel olarak, kapsüllenmiş gac yağının bu gıda ürünlerine başarıyla dahil edilebileceği ve depolama sırasında hafif bir renk değişikliği ve yüksek seviyelerde karotenoid gösterebileceği sonucuna varılmıştır.	[121]

Tablo 2.1 (devamı): Belirli ürünlerde çeşitli bitki özütleri içeren mikrokapsüllerin uygulamaları.

Yeşil çay	Polifenoller	Ekmek	Antioksidan etki	Ekmeğin yeşil çayın polifenollerini ile zenginleştirilmesi ekmek kalitesini ve biyoaktif bileşiklerin işlevselliğinin çoğunu korumuş, bu da bu tür bir takviyenin polifenol alımını artırmak için etkili olabileceğini göstermiştir. Mikrokapsülleme işlemi, kek örneklerinde fenoliklerin termal bozulmaya karşı korunmasında etkili olmuştur. Zeytin yaprağı ekstraktı soya fasulyesi yağında uygun bir antioksidan aktivite göstermiş ve kapsülleme, fenolik bileşiklerin termal stabilitesini iyileştirmiştir.	[122]
Yaban mersini	Antosiyanin	Dondurma ve kek	Antioksidan etki	Ekmeği pişirme sürecinde doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ve zararlı madde üretimini azaltmıştır.	[64]
Zeytin yaprağı	Polifenoller	Soya yağı	Oksidatif stabilite ve antioksidan etki		[123]
Keten tohumu	Omega-3yağ asitleri	Ekmek	Antioksidan etki		[124]

Tablo 2.1’de görüldüğü gibi mikroenkapsül uygulamalarını ele alan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Çalışmaların çok kısıtlı gıda ürün türü üzerine yoğunlaştığı görülmektedir. Diğer taraftan, genel olarak yapılmış olan çalışmaların esansiyel yağların (yeşil çay ve zeytin yaprağı ekstraktları dışında) mikroenkapsülasyonu üzerine olduğu da gözlenmiştir. Bununla birlikte, Tablo 2.1’de de verildiği gibi olumlu sonuçlar nedeniyle konu hakkında yeni araştırma verileri sağlamak önemlidir. Dolayısıyla, bu tez çalışması kapsamında hidrofilik biyoaktif içeriklerce zengin, sürekliliği olan yenilenebilir ve elde edilebilirliği kolay ham maddeler tercih edilmiştir. Zira dünya nüfusu hızla artarken söz konusu nüfusun taleplerini karşılamak için gıda ve enerji tüketimleri de artmaktadır. Bu nedenle, hızlı kentleşmenin yavaş ilerlemesi ve bu atıkların verimsiz yönetimi nedeniyle gıda atıkları birikmektedir. Meyve ve sebze süreç atıkları, çeşitli antioksidan türleri ve diyet lifleri için en çok araştırılan kaynaklardır. Atıklar geleneksel olarak hayvan yemi, pektin ve yakıt üretimi için değerlendirilir [125, 126]. Bazı meyve veya sebze yan ürünleri, bu atıkların değerlendirilmesi için doğal bir antioksidan kaynağıdır [127]. Gıda atıklarının yüksek katma değerli bileşiklere dönüştürülmesi çekici bir araştırma alanı olmuştur. Tez kapsamında zeytin, hibiskus, kuşburnu, vişne, erik gibi mahsullerin atıkları (yaprak, çekirdek ve kabuk) model hammadde olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, ekstrakte edilen bu biyoatıkların çeşitli enkapsülasyon (iyonik jelleşme ve püskürtmeli kurutma) teknikleri ile mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüller katkı maddesi olarak

model gıda ürünleri olarak seçilen bitkisel yağlarda (ayçiçek yağı ve mısırözü yağı) kullanılmıştır. Zira bitkisel yağ tüketimi, diğer yemeklik yağ türlerine göre sağlığa olan faydaları nedeniyle dünya çapında artmıştır. Bununla birlikte, bu yağ içeren gıda ürünleri, tatsızlık ve toksik maddelerin oluşumuna neden olan sıcaklık, ışık ve oksijenle oksitlenme eğilimindedir [128–130]. Bu nedenle, tüketicilerin artan ihtiyaçlarını karşılamak için yağın kalitesinin artırılması gerekmektedir. BHA, BHT ve TBHQ, sağlık etkileri konusunda şüpheler olsa da en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Polifenoller, karotenoidler, tokoferoller ve bitkisel ekstraktlar gibi doğal katkı maddeleri, yağların oksidasyon sorunları nedeniyle yağ içeren gıdaların raf ömrünü uzatmak için çekici hale gelmiştir [131]. En önemlisi de katma değeri yüksek bileşikler içeren bu işlenmiş ürünler, kalite ve besin değerindeki artış nedeniyle fonksiyonel gıdalar olarak onaylanabilir [132]. Tablo 2.1’ de de hatırlatıldığı gibi ilgili doğal antioksidan katkıların mikrokapsülasyon uygulamasının geçerli olduğu çalışma sayısı çok yetersizdir. Soya yağının zeytin yaprağı ekstratı içeren mikrokapsüller ile zenginleştirilerek raf ömrünün uzatıldığı bir çalışma dışında bir çalışmaya rastlanmamıştır [123].

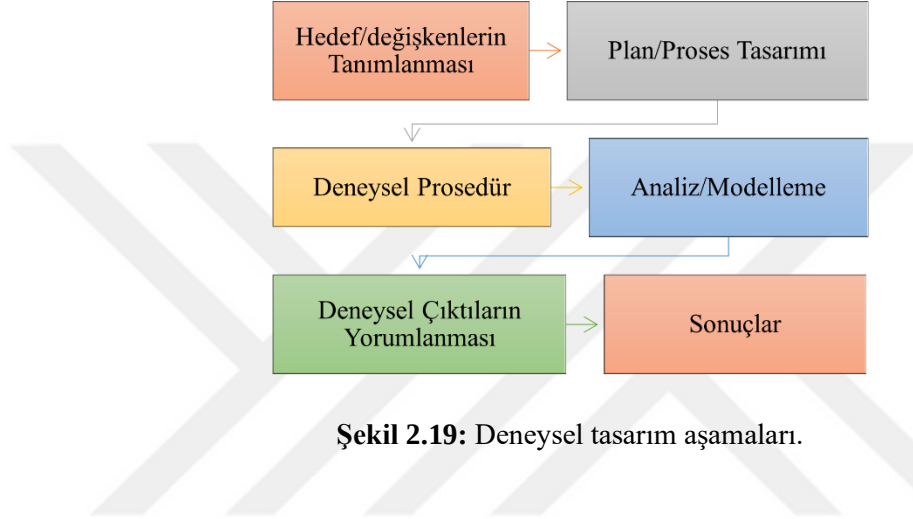
2.6. İstatiksel Deneysel Tasarım

Deneme verilerinden maksimum seviyede bilgiyi etkili bir biçimde elde edebilmek için planlanması gereken denemelerin belirlendiği stratejiye deneysel tasarım adı verilir. Deneysel tasarımda, deney sonucunu etkileyen ve bağımsız olarak değiştirilebilen değişkenlere ‘faktör’, faktörü oluşturan bölgelere ‘seviye’, çıktı olarak alınan verilere ise ‘cevap’ denir. Seviyelerde yapılan değişikliklerin cevap üzerinde yarattığı değişiklik ise ‘faktör etkisi’ adını alır. Deneysel tasarım yöntemi, bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki etkileşimi belirlemek için kullanılır. Deneysel tasarımda, deneme setindeki tüm bağımsız değişkenlerin aynı anda değiştirilmesiyle ve bu değişikliklerin bağımlı değişkenlerle ilişkilendirilmesiyle matematiksel bir model oluşturulur [133]. Deneysel tasarım yöntemi, araştırmacının daha az deneme ile daha fazla bilgi elde etmesine yardımcı olur. Faktörlerin değiştirilmesiyle, prosesin davranışı hakkında bilgi edinmenin yanı sıra proseste yapılması gereken değişikliklerin de belirlenmesi mümkün olabilir.

Deneysel tasarımın iki ana uygulaması, deneyi etkileyen faktörlerin belirlendiği tarama ve deney için en uygun ayarlar veya koşulların bulunduğu optimizasyondur. Genellikle kullanılan yaklaşım, deneyi etkileyebilecek tüm kontrol edilebilir faktörleri içeren bir tarama tasarımı ile başlamak, en önemli olanları belirlemek ve ardından deneysel bir optimizasyon tasarımıyla

devam etmektedir. Oluşturulan modeller, varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilebilir. Tek yönlü ANOVA, deney yapanların çeşitli gözlem gruplarını karşılaştırmasına olanak tanır. İki yönlü ANOVA, iki faktörün etkilerini ayrı ayrı incelemenin yanı sıra etkileşimlerini de incelemeyi sağlar.

Deneysel tasarımın seçimi, nihai deney hedeflerine ve incelenecek faktörlerin sayısına bağlı olmasına rağmen, ilk deneysel planlama son derece kritiktir. Şekil 2.19’da, deneysel tasarım aşamaları bulunmaktadır [134].



Şekil 2.19: Deneysel tasarım aşamaları.

2.6.1. Yanıt Yüzey Metodu

Yanıt Yüzey Metodu (YYM), 1950’lerde George E.P. Box ve K. B. Wilson tarafından tasarlanmıştır. Bu metodoloji, farklı değişkenlerden etkilenen en uygun yanıtı elde etmek için bir dizi deneysel deneme kullanır. Yanıt yüzeyi metodolojileri, bir yanıt fonksiyonu aracılığıyla teorik tasarımda incelenen deneysel alana matematiksel olarak uyan çok değişkenli tekniklerdir [134]. YYM, sınırlı sayıda numune noktasının deneme sonuçlarının uyarlanmasıyla yanıt yüzeyi geliştirilebildiğinden, çok fazla deney veya deneme gerektirmemesi avantajıyla güvenilir sonuçlar sağlar.

YYM, deney düzeneğinin tepkisini veya sonucunu tanımlayarak başlar. Daha sonra parametrelerin belirlenmesi gerekmektedir. Ortalama yanıt, deneyler için dikkate alınan parametrelere bağlı olan bilinmeyen bir fonksiyondur. YYM’nin amacı, çizildiğinde yanıt yüzeyi haline gelecek olan ortalama yanıtı bulmaktır. Ortalama yanıtı bulmak için bir dizi deney yapılacaktır. Bu deneyler, deneyler için seçilen modele göre tanımlanacaktır. Tasarım alanının tamamında bir uydurma gerçekleştirmek, genellikle büyük miktarda veri ve karmaşık bir uydurma fonksiyonu gerektirir. Bu nedenle YYM, doğrusal veya ikinci dereceden polinomlar

biçiminde gelen yerel uydurma fonksiyonlarını tanımlar. Bunlar kullanışlı işlevler olmasına rağmen, model aynı anda tasarım alanının yalnızca küçük bir bölgesine uygulanabilir [135].

Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak bir sürecin veya sistemin optimize edilmesi veya anlaşılması için izlenen temel adımlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- (1) Bağımsız Değişkenlerin Seçimi ve Değişim Aralıklarının Belirlenmesi
- (2) Deney Tasarımının Seçimi
- (3) Deneylerin Yapılması ve Verilerin Toplanması
- (4) Model Denkleminin Geliştirilmesi ve Kontur Grafiğinin Oluşturulması
- (5) Modelin Doğrulanması (varyans analizi)
- (6) Optimum Koşulların Belirlenmesi

Bağımsız değişkenler arasındaki matematiksel ilişki, Denklem (2.1) ile verilen ikinci dereceden modelle ifade edilir.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.1)$$

Y: Cevap değeri

β_0 : Sabit katsayı

β 'lar: Katsayılar

X_i : Bağımsız değişkenler (i ve j 1'den n'e kadar sayıları ifade eder)

ε : Hata terimi

n değerinin faktör sayısı olduğu bu yapıda, β_i , β_{ii} ve β_{ij} (i ve j=1-3) sırasıyla birinci ve ikinci dereceden kodlanmış giriş parametrelerinin ve parametre etkileşimlerinin katsayılarını temsil etmektedir. X_i (i=1-3) ise kodlanmamış değişkenleri ifade etmektedir [136].

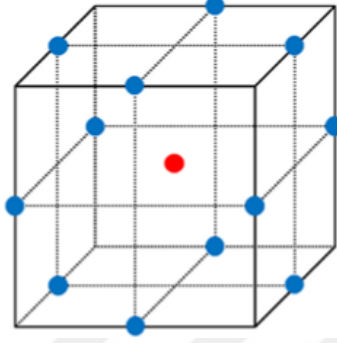
2.6.2. Box-Behnken Deney Tasarımı

Box-Behnken tasarımı, YYM'de merkezi bileşik tasarımlara karşı verimli bir seçenek olarak kabul edilir ve ideal bir alternatif olarak görülür. Faktör başına üç seviyeye sahiptir ancak alanın köşelerinden kaçınır ve orta ve uç seviyelerin kombinasyonlarını doldurur [134]. Sadece

tripleks düzeylere (-1, 0, +1) uygulanmaktadır. Burada -1 ile kodlanmış değer en düşük seviyeyi, 0 ortadaki seviyeyi ve +1 en yüksek seviyeyi temsil etmektedir. Deney sayısı Denklem (2.2) ile hesaplanır.

$$N=2k(k-1)+c_p \quad (2.2)$$

Burada k faktör sayısıdır ve c_p merkezi noktaların sayısıdır.



Şekil 2.20: Box-Behnken tasarımında deneysel noktaların dağılımı.

Box-Behnken tasarımında eşit sayıda faktör için uygulanması gereken deneysel denemelerin sayısı merkezi kompozit tasarımına göre daha azdır. BBD’de deneysel noktalar, merkezi noktadan eşit uzaklıkta bir hiperküre üzerine yerleştirilir (Şekil 2.20). Bu tasarımın uygulanması, ekonomik tasarımı nedeniyle gıda proseslerinde popülerdir. Bu tasarım, faktörler arasındaki etkileşimi değerlendirmek ve özellikle aşırı noktalar olmaksızın süreçleri incelemek için uygundur (yan yana yüksek sıcaklık ve basınç gibi süreçte dahil olan yüksek düzeydeki faktörlerin uygulanmasının zor olduğu durumlarda) [137].

2.6.3. Karışım Tasarımları

Karışım deneyleri, iki veya daha fazla bileşen içeren ve yanıt değişkeninin sadece karışımındaki bileşenlerin göreceli oranlarına bağlı olduğu deneylerdir. Karışım deneylerinde incelenen faktörler, karışımın bileşenlerinin oranlarıdır. Her bir karışım, bu oranların toplamının bir birim olduğu bir q bileşen oranı kombinasyonu olarak tanımlanır [138]. Faktörlerin özel doğası, spesifik tipte regresyon modellerini ve spesifik tipte deneysel tasarımları gerektirir. Karışım deneyleri genellikle karışımın tüm olası formülasyonları için tepkileri tahmin etmeyi ve bileşenlerin her biri için optimal oranları belirlemeyi amaçlar. Bu tür deneylerde, bileşenlerin doğru bir şekilde tahmin edilmesi önemlidir, bu nedenle D-optimal tasarımlar genellikle tercih edilir. Ancak bazı durumlarda, bileşenlerin hassasiyeti veya maliyeti nedeniyle varyansı en aza indirmek önemli olabilir, bu durumda I-optimal tasarımlar tercih edilebilir. I-optimal

tasarımları, genellikle kesin bir model tahminine odaklanmak yerine tahminin ortalama varyansını minimize etmeye odaklanır, bu nedenle karışım deneyleri için D-optimal tasarımlardan daha uygundur ve daha iyi verimlilik sağlayabileceği düşünülmektedir. Karışım tasarımları yanıt yüzey tasarımlarının özel durumlarıdır ve tahmin ve optimizasyon çoğu karışım deneyinin ana hedefidir [139]. I-optimal karışım tasarımı, önerilen modelde daha yüksek istatistiksel doğruluk ve hassasiyet sağlamayı hedefleyen bir istatistiksel tasarım türüdür [140].

Analiz açısından, literatürde özel karışım modelleri önerilmiş ve genellikle Scheffé polinomları olarak adlandırılmıştır. Bir tarif sadece karışım bileşenlerini değil, aynı zamanda işlem değişkenlerini de içeriyorsa, bir karışım-işlem değişkeni ayarı elde edilir ve analizi genellikle karışım bileşenleri için Scheffé türü bir modeli işlem değişkenleri için klasik bir yanıt yüzeyi modeli ile birleştirerek yapılır. Kombinasyon veya birleşik tasarım, faktöriyel/YYM ile karışımın bir deney tasarımı birleşimidir. Değişken kompozisyon ve işlem değişkenleri arasındaki değişkenleri bir deney tasarımı içinde incelemek için kullanılır [141]. En popüler Scheffé modelleri birinci derece, ikinci derece ve özel-kübik modellerdir.

Sürekli sonuçlu geleneksel bir karışım deneyindeki tepkiyi Y ile ve q bileşen oranlarını $x_1, x_2, \dots, x_q$ ile $x_i \geq 0$ ve $\sum_{i=1}^q x_i = 1$ ile ifade eden birinci dereceden Scheffé modeli şöyledir (Denklem (2.3)-(2.5)):

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \varepsilon \quad (2.3)$$

İkinci dereceden Scheffé modeli

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{q-1} \sum_{j=i+1}^q \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.4)$$

ve son olarak özel kübik Scheffé modeli

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{q-1} \sum_{j=i+1}^q \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{q-2} \sum_{j=i+1}^{q-1} \sum_{k=j+1}^q \beta_{ijk} x_i x_j x_k + \varepsilon \quad (2.5)$$

Her üç durumda da ε , sürekli sonuçlar için tipik olarak normal dağıldığı varsayılan hata terimini belirtir [138].

Ricaurte ve diğ., yenilebilir jelatin karışımında yüksek oleik palm yağı kapsüllemesi için I-

optimal tasarımı kullanmıştır [142]. Konar ve diğ., maltodekstrin ile *Chlorella vulgaris*'in püskürtme kurutma işleminde bu tasarım türünü kullanmıştır [143]. Sonuç olarak, bu deneysel tasarım türünün kapsülleme çalışmalarında nadiren uygulandığı görülmektedir. Bu nedenle, bu çalışma birçok açıdan katkı sağlayacaktır.



3. YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. KİMYASAL MALZEMELER

Sodyum aljinat, kitosan, maltodekstrin, Arap zımkı, fosfat tamponu, hidroklorik asit, sodyum klorür, kalsiyum klorür dihidrat, Folin-Ciocalteu reaktifi, 2,2 -difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sülfonik asit diamonyum tuzu (ABTS), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (trolox), sodyum karbonat ($\geq \%99,0$), ve gallik asit Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir. Etanol ve metanol ise Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Oleuropein Extrasynthese'den (Genay, Fransa) satın alınmıştır. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal malzemelerin tümü analitik saflıktadır. Destile su ve ultra saf su (18Ω ohm) Millipore, Milli-Q saf su sistemleri kullanılarak temin edilmiştir.

3.1.2. BİYOATIKLAR

Çalışma kapsamında değerlendirilmediği takdirde atık olarak kalacak gıda yan ürünleri (zeytin yaprağı, hibiskus (*Hibiscus sabdariffa*), kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu) biyoatık olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan (a) zeytin yaprağı, (b) hibiskus, (c) kuşburnu çekirdeği, (d) erik kabuğu, (e) vişne kabuğu biyoatıkları.

3.1.2.1. Zeytin yaprağı

Çalışmada kullanılan zeytin ağacı (*Olea europea*) yaprakları Bursa'dan toplanmıştır. Örnekler, zeytinyağı üretimi için zeytinlerin hasat zamanı olan Kasım ayında toplanmıştır. Yaprak örnekleri ortam koşullarında karanlıkta dört gün boyunca kurutulmuştur. Yaprığın toplam kütlesinin yaklaşık %16'sı nemdi. Yaprak örnekleri oda sıcaklığında muhafaza edilerek kurutulduktan sonra karanlık ve kapalı bir ortamda saklanmıştır. Numuneler daha sonra ~1.5 mm çapında parçacıklar halinde ezilmiştir.

3.1.2.2. Hibiskus

Enkapsülasyon çalışmalarında aktif malzeme olarak *Hibiscus sabdariffa* bitkisinin çiçekleri kullanılmıştır. Kurutulmuş hibiskus örnekleri yerel bir marketten temin edilmiştir. Numunelerin nem oranı taze bitkilerin kütle kayıplarına göre yaklaşık %15 olarak hesaplanmıştır. Örnekler, bir öğütücü (Moulinex Super Blender Grinder, LM209041, Paris, Fransa) ile öğütüldükten sonra elenmiştir. 1.5 mm parçacık boyutunda malzemeler kullanılmıştır.

3.1.2.3. Kuşburnu Çekirdeği

Çalışmada kullanılan kuşburnu çekirdeği örnekleri, Türkiye'nin Çankırı bölgesinden Eylül ayında toplanmıştır. Taze kuşburnu meyvelerinden çekirdekler ayıklanmış ve ardından çekirdekler temizlendikten sonra ortam koşullarında kurutulmuştur. Kuşburnu çekirdeği numunelerinin nem oranı %10.40 olarak hesaplanmıştır. Tüm numuneler analiz öncesi -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2.4. Erik Kabuğu

Bu çalışmada kullanılan “*Black Splendor*” erikleri Antalya'dan yerel bir pazardan edilmiştir. Meyvelerin kabukları ayrılarak taze olarak kullanılmıştır. Numuneler, analiz yapılmaya kadar derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir.

3.1.2.5. Vişne Kabuğu

Bu çalışmada aktif madde kaynağı olarak vişnenin (*Prunus cerasus*) gıda yan ürünü kullanılmıştır. Vişne örnekleri, İzmir'deki yerleşik bir ticari meyve suyu şirketi olan DİMES'ten tedarik edilmiştir. Taze meyvelerin kabukları, ekstraksiyonda kullanılmadan önce meyvelerinden ayrılmış ve derin dondurucuda (-20 °C) saklanmıştır.

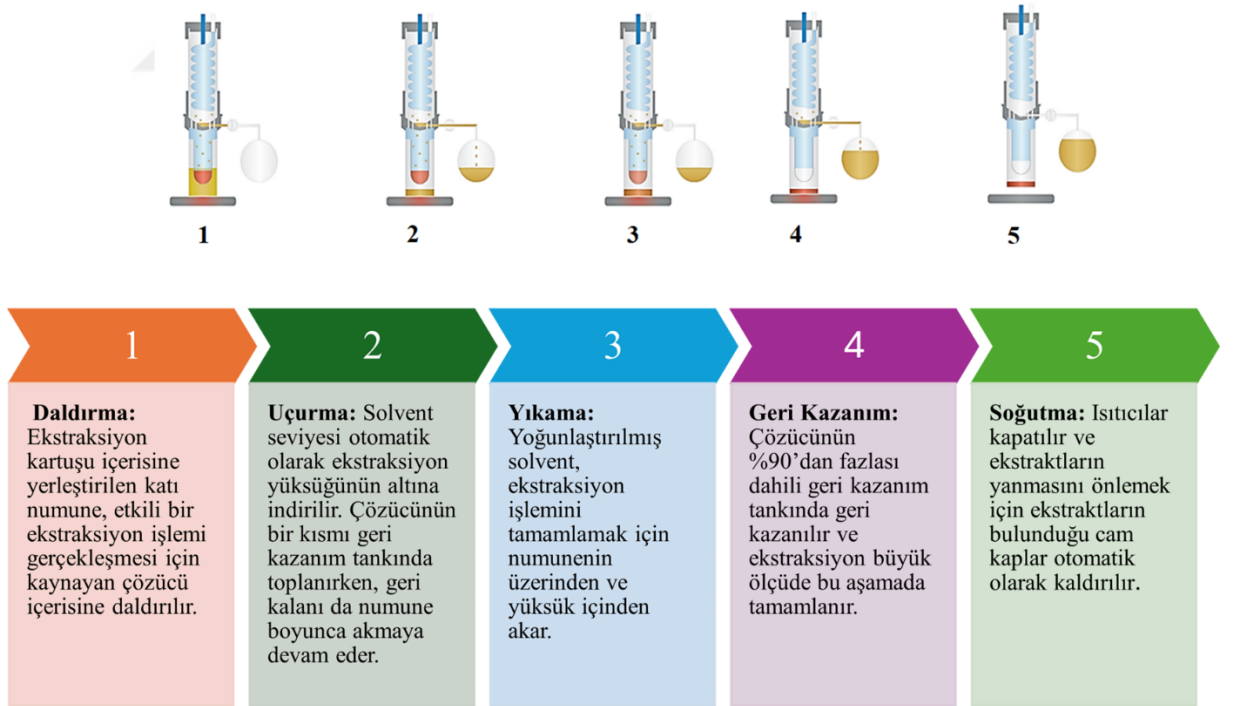
3.2. EKSTRAKSİYON İŞLEMİ

Biyoatıklardan biyoaktif maddelerin geri kazanılabilmesi için, atmosferik basınç altında VELP SER 158 otomatik çözücü ekstraktörü (Velp Scientifica, Usmate, İtalya) kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Süreç, daha az zaman ve solvent tüketimi gerektirdiğinden, geleneksel Soxhlet yönteminin otomatik ve yeşil versiyonudur.

Geleneksel Soxhlet yöntemine alternatif olarak geliştirilmiş bu sistem ile aynı anda altı numunenin ekstraksiyonunu hızlı, verimli ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirmek mümkündür [144]. Bu yöntem, geleneksel Soxhlet yönteminin olumsuz yönlerini ortadan kaldırır ve beş kat daha hızlı sonuç vermektedir.

Yöntemin birincil amacı; ekstraksiyon süresini, çevresel olumsuz etkileri, atık üretimini, enerji ve solvent tüketimine bağlı ekonomik maliyetleri azaltırken, ekstraksiyon verimliliğini ve ekstraksiyon kalitesini optimize etmektir [3, 145].

Tam bir numune ekstraksiyonu için Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu (OÇE), beş adımdan oluşan bir süreci takip etmektedir. Bu adımlar, Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2: Otomatik çözücü ekstraksiyonu proses aşamaları (“SER 158 Series Automatic Solvent Extractor”, 2021).

Ekstraksiyon için 1 gram bitki materyali tartılarak, üzerine 80 mL sulu etil alkol çözeltisi (%80, v/v) eklenmiş ve bu karışım cam kapların içine selüloz ekstraksiyon kartuşları (Whatman, Maidstone, UK, tek kalınlık, 33 mm x 80 mm, Ürün Kodu 2.800.338) aracılığıyla yerleştirilmiştir. Çözücünün bir kısmı geri kazanım tankında toplanırken, diğer kısım bir önceki ekstraksiyon adımını tamamlamak için numune boyunca akmaya devam etmektedir. Beklendiği gibi, kalan kısım bir toplama tankında geri kazanıldığı için solvent seviyesi düşmüştür. Selüloz yüksüğünden süzülen ekstrakt, filtrelemeye tabi tutulmamıştır. Kaldırma operatörü ile ekstraksiyon kapları arasında butil contalar kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: Biyoatıkların ekstraksiyonu için OÇE sistemi.

Hedef bileşenler polar polifenoller olduğundan, sistemin çözücüsü olarak polar etanol çözeltisi (sulu etil alkol, %80, v/v) kullanılmıştır.

Hibiscus sabdariffa, erik kabuğu ve vişne kabuğu biyoatıklarının ekstraksiyonunda ise, çözücü olarak 80 mL etanol:su:0.1 N HCl karışımı (68:20:12, v/v/v) kullanılmıştır. Asidik çözeltiler, antosiyaninleri flavilyum iyonu formunda dengeleyerek antosiyanin maddelerinin bozunmasını engellediği için çözücüye özellikle HCl eklenmiştir [146]. Elde edilen ekstraktlar, kapsülleme işlemine kadar -4°C’de cam şişede saklanmıştır.

3.3. ENKAPSÜLASYON İŞLEMİ

3.3.1. İyonik Jelasyon Yöntemi

3.3.1.1. Sodyum Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması

İyonik jelleşme yönteminde duvar malzemesi olarak sodyum aljinat çözeltileri kullanılmıştır. Bu amaçla, üç farklı konsantrasyonda sulu sodyum aljinat (%1, %1.5 ve %2, w/v) çözeltileri hazırlanmıştır. Sodyum aljinat oranları, distile suda çözülen toz sodyum aljinat kullanılarak, her bir çözelti için sırasıyla 10 g/L, 15 g/L ve 20 g/L olarak ayarlanmıştır. Oluşturulan çözeltiler, karıştırma işlemi sırasında oluşan hava baloncuklarını gidermek amacıyla kullanılmadan önce, kullanım öncesinde 24 saat boyunca +4°C'de saklanmıştır. Şekil 3.4'te sodyum aljinat çözeltisinin hazırlanışı görsel olarak sunulmuştur.



Şekil 3.4: Sodyum aljinat çözeltisinin hazırlanışı.

3.3.1.2. CaCl_2 Çözeltisinin Hazırlanması

İyonik jelleşme yönteminde jelleşme ortamı olarak kullanılacak CaCl_2 çözeltileri, üç ayrı konsantrasyonda (%2, %8.5, %15, w/v) hazırlanmıştır. Bu çözeltiler, belirli miktarlarda kalsiyum klorür 2-hidratın ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) distile suda çözünmesiyle oluşturulmuş ve CaCl_2 konsantrasyonları sırasıyla 20 g/L, 85 g/L ve 150 g/L olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.5: Kalsiyum klorür çözeltisinin hazırlanışı.

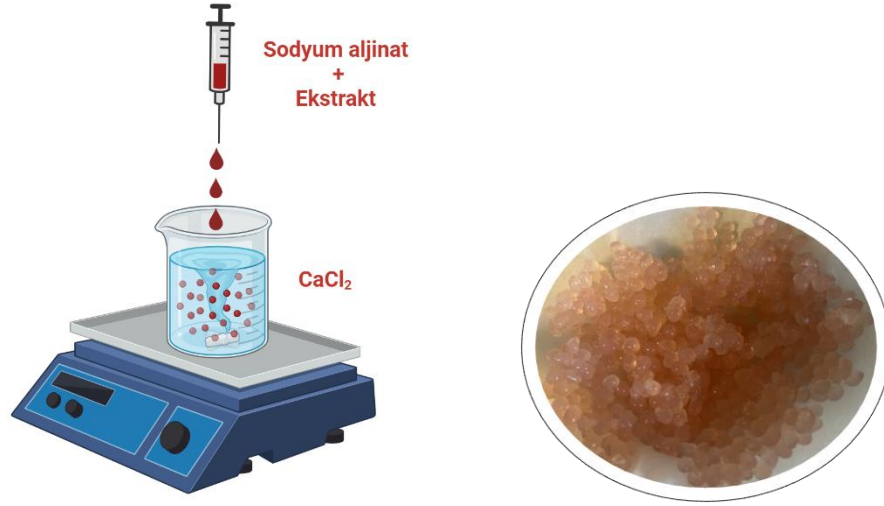
3.3.1.3. Mikrokapsül Üretimi

Aktif (etken) malzeme olarak polifenoller açısından zengin zeytin yaprağı, *Hibiscus sabdariffa*, kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu biyoatıklarından OÇE ile edilen bitkisel ekstraktlar, kaplama malzemesi olarak ise sodyum aljinat (%1, 1.5 ve %2, w/v) çözeltileri kullanılmıştır. Öte yandan, aktif maddenin iyonik jelleşme yoluyla mikrokapsülasyonu için jelleştirici ortam olarak CaCl_2 (%2, 8.5 ve %15, w/v) çözeltileri kullanılmıştır [147]. İyonik jelleşme işlemi, duvar malzemesi konsantrasyonu, jelleşme ortamı konsantrasyonu ve sertleşme süresi Tablo 3.1'e göre ayarlanarak uygulanmıştır. Aktif malzemenin duvar malzemesine oranı ön denemeler sonucu 1/2 (v/v) olarak belirlenmiş ve çalışma boyunca sabit olarak alınmıştır.

Tablo 3.1: Aljinat taneciklerinde aktif maddelerin iyonik jelleşme yöntemiyle mikrokapsülasyonu için seçilen proses parametreleri ve seviyeleri.

Bağımsız Değişken	Birim	Sembol	Kodları ile seviyeler		
			-1	0	1
Kalsiyum Klorür	(%, w/v)	A	2	8.5	15
Sodyum Aljinat	(%, w/v)	B	1	1.5	2
Sertleşme Süresi	dakika	C	15	30	45

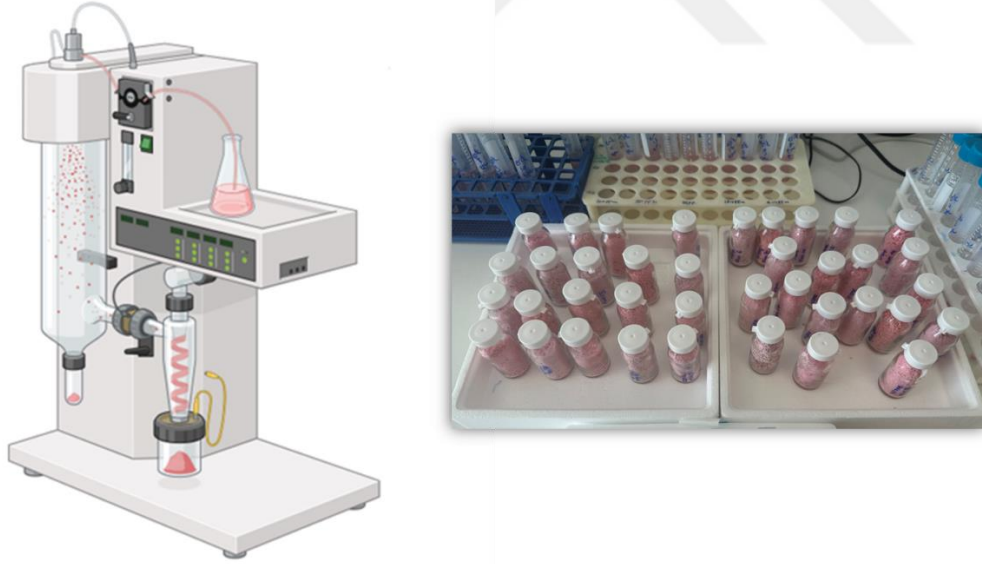
Bitkisel ekstrakt/sodyum aljinat karışımı, ortam koşulları altında bir manyetik karıştırıcı (Model MSH-20D, DAIHAN Scientific Co. Ltd., Kore) üzerinde jelleştirici ortama (CaCl_2 çözeltisine) damlatılmıştır (Şekil 3.6). Damlaların birleşmesini önlemek için CaCl_2 çözeltisi manyetik karıştırıcı kullanılarak 275 rpm hızında karıştırılmıştır. Mikrokapsüller oluşturulduktan sonra ortam sıcaklığında kapsüllerin sertleşmesi için bir süre beklenmiştir. Bu nedenle sertleşme süresi de proses parametresi olarak seçilmiştir. YYM'de belirlenen sürelerde (15, 30, 45 dk) jelleşme ortamında sertleştirilen kapsüller süzülerek 3 kez distile su ile yıkanmıştır ve 12 saat boyunca çeker ocakta kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.6: Aljinat boncuklarının iyonik jelleşme yöntemiyle hazırlanmasının şematik gösterimi.

3.3.2. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi

Bitkisel ekstraktların püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu, laboratuvar ölçekli bir püskürtmeli kurutucu (Büchi Mini Püskürtmeli Kurutucu B-290) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Püskürtmeli kurutma ünitesi (Büchi Mini Spray Dryer B-290).

Kapsülleme sürecinde aktif madde olarak biyoatıklardan elde edilen bitkisel ekstraktlar kullanılmıştır. Duvar malzemeleri olarak Arap zıkkı, maltodekstrin ve Arap zıkkı/maltodekstrin karışımı kullanılmıştır. Arap zıkkı ve maltodekstrin oranları % 0 ile %10 arasında değışen konsantrasyonlarda incelenmiştir ve toplam oranları %10 ile sınırlı

tutulmuştur. Bu nedenle mevcut sistemin istatistiksel deney tasarımı, özel tasarım (custom design) altında bulunan kombine tasarım (combined design) seçilerek I-optimal dizayn alt türü kullanılmıştır. Arap zımkı oranı, maltodekstrin oranı ve kurutma havası giriş sıcaklığı üç bağımsız parametre olarak alınmıştır. Kurutma havası giriş sıcaklığı ise 130°C ile 190°C arasında farklı seviyelerde ayarlanmıştır. Tablo 3.2, bağımlı ve bağımsız değişkenleri kodlanmış seviyelerle göstermektedir.

Tablo 3.2: Bitkisel ekstraktların püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsüllemesi için seçilen proses parametreleri ve seviyeleri.

Bağımsız Değişken	Birim	Sembol	Kodları ile seviyeler				
			-2	-1	0	1	2
Arap zımkı	(%, w/v)	A	0	2.5	5	7.5	10
Maltodekstrin	(%, w/v)	B	0	2.5	5	7.5	10
Giriş sıcaklığı	(°C)	C	130	145	160	175	190

Püskürtmek kurutma prosesi öncesinde bitkisel ekstraktlardan alkolün uzaklaştırılması amacıyla döner buharlaştırıcıda (Laborota 4000, Heidolph, Almanya) yaklaşık 100-110 mbar basınç altında 45 °C sıcaklıkta evaporasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda uzaklaştırılan alkol miktarı kadar saf su ilave edilerek ekstraktlar 500 rpm’de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

Bitkisel ekstraktların ve duvar malzemelerinin karışımı için her bir deneme için 100 ml ekstrakta uygulanan 10 g duvar malzeme (maltodekstrin ve Arap zımkı) kombinasyonları, beher içerisinde birleştirilmiş, karışımlar Ultra-Turrax (IKA T25 Digital, Staufen, Almanya) ile 15000 rpm’de 5 dakika boyunca homojenleştirilmiş ve püskürtmeli kurutma prosesi için hazır hale getirilmiştir. Laboratuvar tipi püskürtmeli kurutma cihazı (BUCHI, B290, İsviçre) kullanılarak gerçekleştirilen kurutma prosesleri 0.5 mm çapına sahip nozülde atomize edilen karışımın deneme deseninde belirtilen kurutma sıcaklığında, sabit basınç altında 550 L/sa akış hızına sahip ısıtılmış hava ile gerçekleştirilmiştir.

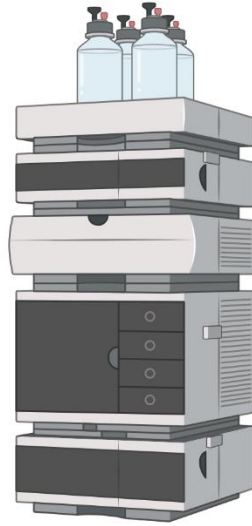
Püskürtmek kurutma işleminin tüm denemelerinde, sabit çıkış havası sıcaklığını (85±5°C) sağlamak için karışım besleme hızı 240-640 mL/sa ve aspirasyon hızı 30 m³/sa (%80) olarak ayarlanmıştır. Kurutma siklonunda toz formuna dönüşen karışım seperatörden ayrılarak ürün toplama haznesinde toplanmıştır. Elde edilen ürünler, analiz yapılana kadar nem ve oksijen geçişi olmayacak şekilde örnek şişelerinde -20°C’de saklanmıştır.

3.4. ANALİZLER

3.4.1. Kromatografik Analiz

3.4.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

Zeytin yaprağının OÇE ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen bitkisel ekstraktın iyonik jelasyon ile mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen kapsüllerin içerdikleri bireysel polifenollerin niceliklerinin belirlenmesi için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.8). Bu analiz için Agilent 1260 kromatografik ekipmanı (Agilent, Waldbronn, Almanya) kullanılmıştır. Agilent 1260, HPLC analizleri için örtülü pompa, gaz evaporatörü, manuel enjektör ve diyot dizisi detektörü içeren bir sistemdir.



Şekil 3.8: HPLC cihazı.

Ürünlerdeki bireysel fenolik miktar tayini, bileşiklerin kolondaki alıkonma süresi ve UV-spektrumlarının ilgili standart maddelere ait süre ve spektrumlarının karşılaştırılması suretiyle belirlenir. Fenolik bileşiklere ait piklerin tanımlanması ve niceliklerinin belirlenmesi, bileşiklerin maksimum absorpsiyon değeri verdiği dalga boyunda gerçekleştirilir. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara dayanılarak polar fenolik bileşenlerin analizi için 276 nm dalga boyu seçilmiştir [148]. Bileşiklerin niceliklerinin belirlenmesi için HPLC kromatogramlarından elde edilmiş entegre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanmış kalibrasyon eğrilerinden faydalanılmıştır. Zeytin yaprağının içerisindeki ana fenolik bileşen olan oleuropein miktarı, Şahin ve diğ. tarafından zeytin yaprağının oleuropein içeriğinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmadaki ile birebir aynı yöntem ve çalışma koşulları kullanılarak tayin edilmiştir [149].

Oleuropein tayini için, %80 etanol ile hazırlanan standart eğri denklemi Denklem (3.1)'de verilmiştir:

$$\text{Oleuropein } \%80 \text{ EtOH: H}_2\text{O için Alan}=6.96(\text{Konsantrasyon})+6.43 \quad r = 0.9997 \quad (3.1)$$

3.4.2. Spektrofotometrik Analizler

3.4.2.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Bitkisel ekstraktların ve mikrokapsüllerin toplam fenolik madde (TFM) içeriğinin belirlenmesi için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde Folin–Ciocalteu reaktifi, fenolik maddelerin varlığında sodyum karbonat ile indirgenir. Sarı renkli olan Folin Ciocalteu reaktifi, bazik ortamda fenolik bileşiklerin oksidasyonu sonucu mavi renge dönüşür [150].

İlk olarak yaklaşık 15 mg mikrokapsül tartılmış ve kapsüller, 3 mL etanol: asetik asit: su karışımı (50:8:42, v/v/v) içinde çözülmüştür. Bu karışım, 1 dakika boyunca vortex (IKA MS 3 basic, Staufen, Almanya) ile karıştırılmış ve 25 °C'de 20 dakika boyunca ultrasonik banyoda (Protech, İstanbul, Türkiye) bekletilmiştir. Ardından 0.45 µm şırınga filtreleri kullanılarak süzölmüştür. Elde edilen karışımın toplam fenolik içeriği Folin–Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir. Bu analize göre, 100 µL mikrokapsül karışımı, 2000 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (10%, v/v) içine alınmıştır. Bu karışım karanlıkta 5 dakika bekletildikten sonra, 1800 µL sodyum karbonat çözeltisi (7.5%, w/v) eklenerek karıştırılmıştır. Elde edilen karışım karanlıkta 1 saat bekletildikten sonra, absorbans değerleri bir UV spektrofotometresinde (PG Instruments, T60 / Leicestershire ve İngiltere) 765 nm'de kaydedilmiştir. Bu analiz için farklı konsantrasyonlarda standard gallik asit çözeltisi hazırlanarak verilerin mg gallik asit eşdeğeri (mg-GAE) cinsinden hesaplanması için bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. TFM analizi için kullanılan kalibrasyon denklemi Denklem (3.2)'de verilmiştir:

$$\%80 \text{ EtOH: H}_2\text{O için} \quad \text{ABS}_{765} = 0.0028(\text{gallik asit}) + 0.0133 \quad r = 0.9997 \quad (3.2)$$

3.4.2.2. Yüzey Fenolik Madde Tayini

Mikrokapsüllerin etkinliğini değerlendirmek için mikrokapsüllerin yüzey fenolik madde (YFM) içeriği ölçölmüştür. 15 mg mikrokapsül 3 mL etanol-metanol çözeltisinde (1:1, v/v) oda sıcaklığında 5 dakika boyunca ultrasonik banyoya (Protech, İstanbul, Türkiye) daldırılarak çözülmüştür [151]. Çözeltiler 0.45 µm şırınga filtreleri kullanılarak filtrelendikten sonra, YFM yukarıda açıklandığı gibi Folin-Ciocalteu yöntemine göre hesaplanmıştır. YFM analizi için de kalibrasyon denklemi olarak Denklem 3.2 kullanılmıştır.

3.4.2.3. DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat) Serbest Radikal Yöntemi

Mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi, *in vitro* DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) testi kullanılarak belirlenmiştir. 15 mg mikrokapsül, 3 mL etanol:asetik asit:su karışımında (50:8:42, v/v) çözölmüştür. Bu karışım 1 dakika boyunca vortex (DragonLab, MX-S) ile karıştırılmıştır ve 40°C'lik bir su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Ardından, 0.45 µm şırınga filtrelerinden geçirilmiştir. Bu yöntemde, 3.9 mL 25 mg L⁻¹ DPPH radikal çözeltisi, 100 µL mikrokapsül karışımına eklenir. Elde edilen karışım 1 saat boyunca karanlıkta bırakılmış ve 517 nm'de absorbans değerleri kaydedilmiştir [151]. Mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerleri, verilerin gram kurutulmuş madde başına mg trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) cinsinden sunulması için farklı konsantrasyonlarda standart trolox çözeltisi kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturularak hesaplanmıştır. DPPH analizi için kullanılan kalibrasyon denklemi Denklem (3.3)'te verilmiştir:

$$\%80 \text{ EtOH: H}_2\text{O için} \quad \text{ABS}_{517} = -0.0049(\text{trolox}) + 0,74 \quad r = 0.9965 \quad (3.3)$$

3.4.2.4. Toplam Antosiyanin Analizi

Hibiskus, erik kabuğu ve vişne kabuğu ekstraktlarının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüllerin toplam antosiyanin (TA) içeriği, pH diferansiyel yöntemine bağlı olarak 520-700 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [152]. pH değeri 1.0 (0.025 M) olan potasyum klorür tamponu ve pH değeri 4.5(0.4 M) olan sodyum asetat tamponu kullanılarak uygun seyreltme faktörleri belirlenmiş ve bu faktörler, başlangıç hacmine göre hesaplanmıştır. Absorbans (ABS) değerleri, iki farklı pH değeri (pH 1.0 ve pH 4.5) için ölçölmüş ve Denklem (3.4)'e göre hesaplanmıştır:

$$\text{ABS} = (\text{ABS}_{520} - \text{ABS}_{700})_{\text{pH}_{1.0}} - (\text{ABS}_{520} - \text{ABS}_{700})_{\text{pH}_{4.5}} \quad (3.4)$$

Mikrokapsüllerin TA'sı Denklem (3.5)'e göre hesaplanmıştır. Siyanidin-3-glukozit'in molar kütlesi 449.2 g/mol olarak kabul edilmiş ve molar absorptivitesi 26900 L/molcm olarak alınmıştır. Sonuçlar, gram kuru madde başına mg siyanidin-3-glukozit madde (mg-C3G/g-KM) eşdeğeri cinsinden verilmiştir.

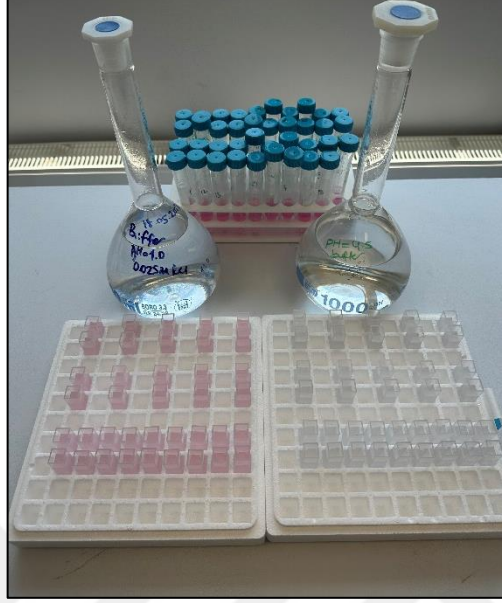
$$\text{TA} = \frac{\text{ABS} \times \text{MW} \times \text{DF} \times 100}{\varepsilon \times 1} \quad (3.5)$$

ABS: absorbans ($A_{\text{pH}1.0} - A_{\text{pH}4.5}$),

MW: moleküler ağırlık (449.2 g/mol cyn-3-glu),

DF seyreltme faktörü ve ϵ molar absorptivite ($\epsilon = 26900 \text{ L/molcm}$)'yi belirtmektedir.

Mikrokapsüllere uygulanan antosiyanin analizi Şekil 3.9'da görsel olarak verilmiştir.



Şekil 3.9: Antosiyanin analizi.

3.5. *IN VITRO* SALIM TESTLERİ

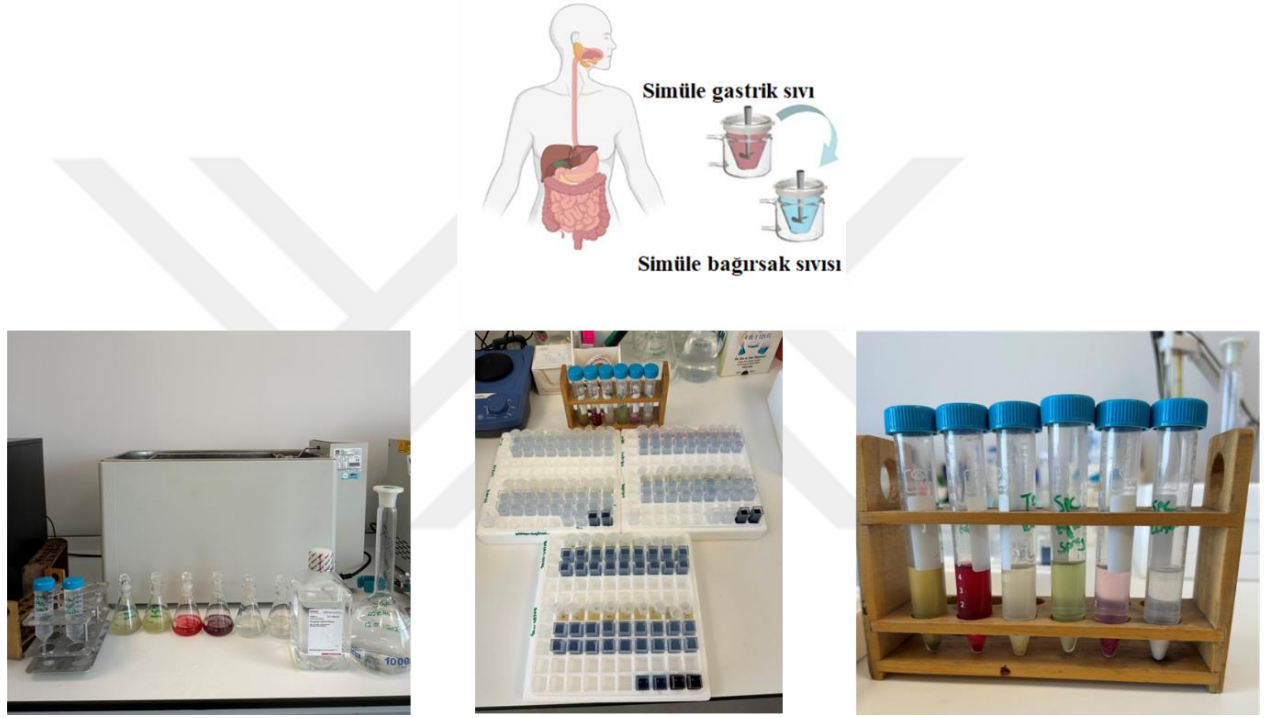
İnsanlar ve hayvanlar üzerinde sindirim/biyoyararlanım çalışmaları karmaşık ve maliyetli olduğundan araştırmalar genellikle *in vitro* olarak yapılır. Ayrıca önemli ön çalışmalara ihtiyaç vardır. Aynı zamanda etik sorunlar nedeniyle insanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalardan kaçınılmaktadır [153]. Bu nedenle *in vivo* işleme geçmeden önce ön bilgi için *in vitro* test yapılması vazgeçilmezdir.

Mikrokapsüller, simüle edilmiş sindirim sistemi koşullarına tabi tutulduklarında, hedeflenen dağıtımdaki potansiyellerini vurgulayan ilgi çekici özellikler sergiler. Bu mikropartiküller mide ve bağırsak ortamlarının sıralı aşamalarını geçerken farklı davranışlar ortaya çıkar.

Polifenol yüklü mikropartiküllerden TFM salımı için iki farklı simulant (mide sıvısı ve bağırsak sıvısı) kullanılmıştır. Simüle gastrik sıvı (SGS) asidik solüsyonla (pH ~1.5) hazırlanmıştır; 2 gram NaCl, 7 mL %37 HCl (w/w) solüsyonu içeren 1 L suda eritilmiştir [154]. Simüle bağırsak sıvısı (SBS) hazırlanırken ise, 0.1 M fosfat tamponu (pH = 7.4) kullanılmıştır [154].

Daha sonra, 200 mg mikrokapsüllenmiş bitkisel ekstrakt sırasıyla 50 mL SGS ve SBS solüsyonlarına eklenmiştir. Son olarak hazırlanan karışım; 37 °C sıcaklıkta 150 rpm' de

çalkalamalı su banyosunda (Nüve, ST-402) bekletilmiş ve salım tamamlanana kadar 24 saat boyunca düzenli aralıklarla 1.5 mL numune alınarak ilgili solüsyonla değiştirilmiştir. Salınan biyoaktif bileşenler, alınan numunelerin Folin-Ciocalteu yöntemiyle spektrofotometrik analizi ile tayin edilmiştir. Mikrokapsüllerin mide ve bağırsak ortamlarına salım performansı, belirli zaman aralıklarında alınan numunelerinin TFM içeriğinin, optimum koşullardaki mikrokapsül numunelerinin TFM içeriğine oranı hesaplanarak belirlenmiştir. Şekil 3.10'da simüle edilmiş in-vitro salım testleri görsel olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.10: Simüle edilmiş in-vitro salım ortamı.

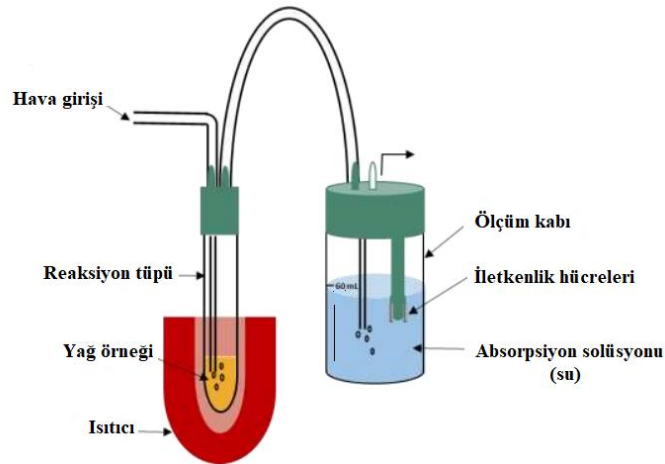
3.6. MODEL GIDADA UYGULAMA

Optimum koşullar altında üretilen mikropartiküller, model gıda ürünlerinin stabilitesini ve biyoaktif özelliklerini arttırmak amacıyla en çok tüketilen iki gıda ürününde katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Ayçiçek yağı ve mısırözü yağı, lipid oksidasyona duyarlı oldukları için model ürünler olarak kullanılmıştır [155, 156]. Yağ örnekleri, mikrokapsüllerle işlendikten sonra sırasıyla oksidatif stabilite ve biyoaktif özellikler açısından analiz edilmiştir. Hızlandırılmış oksidasyon testi olarak Rancimat yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca işlem görmemiş ve işlem görmüş yağların biyoaktif özelliklerini belirlemek için, toplam fenolik içeriği ve ABTS serbest radikal süpürme aktivitesi ölçülmüştür. Örneklerin toplam fenolik içeriği Folin

Ciocalteau yöntemi ile belirlenmiştir, antioksidan aktivitesi ise ABTS yöntemi ile belirlenmiştir.

3.6.1. Zenginleştirilmiş ürünün oksidatif stabilitesi

İşlem görmemiş ve mikrokapsüllerle zenginleştirilmiş yağ örneklerinin oksidasyona karşı stabilitesi, hızlandırılmış koşullar altında (140 °C) Ransimat cihazı (Rancimat 892, Metrohm) ile ölçülmüştür. Şekil 3.11’de Ransimat cihazı şematik olarak gösterilmiştir. Bu cihaz ile bir kere de 8 örneğin analizini yapmak mümkündür. Ransimat hızlandırılmış oksidasyon testini uygulamak için cihaza 3 yağ örneği ihtiva eden tüpler koyulmuştur. Yağ örneklerinin içerisinde 20 L/sa hava geçirilmiştir. Ölçüm kabında 60 mL ultra saf su kullanılmıştır. Hızlandırılmış koşullarda oksidasyona maruz bırakılıp bozunduran yağlardan ayrılan uçucu organik asitler, yağ numunesinden geçen ince kapiler borular yardımıyla ultra saf su içeren kaplara aktarılmıştır. Şekil 3.12’de mikrokapsüllerle zenginleştirilmiş yağların oksidatif stabilite ölçümü şematik olarak gösterilmiştir. Oksidasyon süreci boyunca yağ örneğinin oksidasyonu ile ultra saf suyun iletkenliği arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. İletkenliğe karşı zaman grafiğindeki ani değişimin olduğu dönüm noktası otomatik olarak tayin edilmiştir. Yani yağın oksidasyona karşı direnç süresi, yağ içeren gıdaların oksidatif stabilitesinin bir göstergesi olarak kullanılan indüksiyon süresi olarak kaydedilmiştir [157]. İndüksiyon süresi, sa cinsinden verilmiştir [158].



Şekil 3.11: Ransimat cihazı.



Şekil 3.12: Mikrokapsüllerle zenginleştirilmiş yağların oksidatif stabilite ölçüm süreci.

3.6.2. Biyoaktivite Testleri

Yağ örneklerinin polar içerikleri, ürünler dijital homojenizatörde (IKA T25 ULTRA TURRAX) hekzan ile karıştırıldıktan sonra metanol ile ekstrakte edilmiştir. İşlem görmüş ve işlem görmemiş yağ numunelerinin biyoaktivite özelliklerini belirlemek amacıyla 765 nm’de Folin-Ciocalteu metodu ve 734 nm’de ABTS radikal süpürme aktivitesi kullanılmıştır [40]. ABTS testi, ön deneylerimize bağlı olarak DPPH testine kıyasla daha tekrarlanabilir sonuçlar vermiştir. Bulgular, sırasıyla yağ örneğinin gramı (g-yağ) başına mg gallik asit eşdeğeri (mg-GAE/g-yağ) ve mg troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (mg-trolox/g-yağ) olarak verilmiştir.

3.6.2.1. Folin-Ciocalteu Metodu

Yağ örneklerinin TFM içeriğinin belirlenmesi için Malik ve Bradford (2006) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır [159]. TFM değerleri, yağ örneğinin gramı (g-yağ) başına mg gallik asit eşdeğeri (mg-GAE/g-yağ) cinsinden ifade edilmiştir. TFM analizi için kullanılan kalibrasyon denklemi Denklem (3.6)’da verilmiştir:

$$\%80 \text{ EtOH: H}_2\text{O için} \quad A_{765} = 0.0007(\text{gallik asit}) + 0.0026 \quad r = 0.9992 \quad (3.6)$$

3.6.2.2. ABTS Tayini

Yağ örneklerinin antioksidan aktivitesi (AA), Re ve diğ. tarafından yapılan çalışmada belirtildiği gibi, 734 nm’de ABTS tayini ile ölçülmüştür [160]. İşlem görmüş ve işlem görmemiş yağ numunelerinin ABTS tayininde seyreltik ABTS çözeltisi kullanılmıştır. Seyreltik ABTS çözeltisi için; 80 mL metanol çözeltisi (%80, v/v) üzerine bir gece önceden hazırlanmış 800 µL derişik ABTS çözeltisi eklenmiştir. 734 nm’de metanol çözeltisi (%80, v/v) ile sıfırlanmış UV cihazında 0.7 absorbans değerine karşılık gelen ABTS çözeltisi kullanılmıştır. ABTS değerleri, yağ örneğinin gramı (g-yağ) başına mg troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (mg-TEAC/g-yağ) cinsinden ifade edilmiştir. ABTS analizi için kullanılan kalibrasyon denklemi Denklem (3.7)’de verilmiştir:

$$\%80 \text{ MeOH: H}_2\text{O için} \quad A_{517} = -0.0027(\text{trolox}) + 0.6979 \quad r = 0.9995 \quad (3.7)$$

3.7. MİKROKAPSÜLLERİN FİZİKOKİMYASAL ANALİZİ

3.7.1. İyonik Jelleşme Yöntemiyle Elde Edilen Mikro kapsüllere Uygulanan Analizler

3.7.1.1. Enkapsülasyon Etkinliği

Kapsüllerin performansı, enkapsülasyon etkinliği (EE) değerine göre belirlenir. EE, Škerget ve diğ. tarafından tanımlandığı gibi TFM içeriği açısından değerlendirilmiştir [161]. Absorbans, 765 nm dalga boyunda bir spektrofotometrede (T60; PG Instruments) okunmuştur.

Mikrokapsüllerdeki yüzey ve toplam fenolik bileşikler kullanılarak mikroenkapsülasyon etkinliği hesaplanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği (EE), kapsüllenmiş fenolik içeriğin toplam fenolik içeriğe oranıdır. Kapsüllenmiş fenolik içerik, TFM ve YFM arasındaki fark alınarak belirlenir. Mikro kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, Denklem (3.8)'e göre hesaplanmıştır:

$$EE (\%) = \frac{TFM - YFM}{TFM} * 100 \quad (3.8)$$

Burada:

TFM: Kapsülleme öncesi başlangıçtaki toplam fenolik içeriği,

YFM: Kapsülleme işleminden sonra kalan serbest (enkapsüllenmemiş) fenolik bileşen miktarı, süpernatant fenolik içeriği ifade etmektedir.

TFM içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği (EE_{TFM}) yüzde olarak ifade edilir ve mikrokapsüller içinde başarıyla kapsüllenfen fenoliklerin oranını gösterir. Daha yüksek bir EE_{TFM} , daha etkili bir kapsülleme sürecini gösterir.

Ön denemeler sonucunda zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelasyonu ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, zeytin yaprağı ekstraktı içeriğinde bulunan oleuropein fenolik bileşiği takip edilerek de analiz edilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelasyonu ile edilen mikrokapsüllerin performansı, iki bağımlı değişkenin ($EE_{oleuropein}$ ve EE_{TFM}) EE'si ile değerlendirilmiştir. Laboratuvar çalışmaları sırasında yaşanan teknik problemler sebebiyle diğer mikrokapsüllerde kromatografik çalışmalar yapılamamıştır.

3.7.1.2. Aljinat Mikro kapsüllerin Şekli ve Morfolojisi

Kapsüllerin morfolojisi, bir AxioCam Erc5 dijital kameraya (Stemi 2000-C, Zeiss, Göttingen, Almanya) bağlı bir stereo mikroskop (Stemi2000-C, Zeiss, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Kapsül boyutu, Zeiss (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Almanya) programı

kullanılarak belirlenmiştir. Kapsüllerin $d_{\max}$, $d_{\min}$, çevre ve alan değerleri ZEN lite, 2012 yazılımı ile ölçülmüştür. Mükemmel küresel şekli belirleyen kapsüllerin şekil özellikleri için küresellik değeri (KD) ve şekil faktörü (SF) değerleri $d_{\max}$, $d_{\min}$, P (çevre) ve A(alan) değerleri kullanılarak sırasıyla Denklem (3.9) ve Denklem (3.10)'a göre hesaplanmıştır [162]:

$$\text{Küresellik Değeri (KD)} = \frac{d_{\max} - d_{\min}}{d_{\max} + d_{\min}} \quad (3.9)$$

$$\text{Şekil Faktörü (SF)} = \frac{P^2}{4\pi A} \quad (3.10)$$

Burada $d_{\max}$ maksimum çap, $d_{\min}$ minimum çap, P çevre ve A kapsüllerin koruma alanını temsil etmektedir.

Optimum işlem koşullarında elde edilen kapsüllerin morfolojisini belirlemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss Leo 1430, Oberkochen, Almanya) kullanılmıştır. SEM kullanılarak, cihazın uçlarına sabitlenmiş ve ince (10 nm) altın (Au) ve paladyum (Pd) tabakası ile kaplanmış örneklerin görüntülenmesi gerçekleştirilmiştir. SEM analizi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskop Görüntü Analiz Ünitesinde yapılmıştır.

3.7.2. Püskürtmeli Kurutma Yöntemiyle Elde Edilen Mikro kapsüllere Uygulanan Analizler

Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen numuneler, enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk ve Carr indeksi (CI) gibi çeşitli fizikokimyasal analizlere tabi tutulmuştur.

3.7.2.1. Enkapsülasyon Etkinliği

Kapsüllenmiş bir üründe başarıyla hapsolan toplam fenoliklerin yüzdesini ifade eden EE, püskürtmeli kurutma yöntemi ile edilen mikro kapsüllerde de mikro kapsüllerdeki toplam ve yüzey fenolik madde miktarları kullanılarak Denklem (3.7)'ye göre hesaplanmıştır. Mikro kapsüllerdeki toplam fenolik madde ve yüzey fenolik madde içeriği spektrofotometrik analizler bölümünde bahsedilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir.

3.7.2.2. Kurutma Verimliliği

Püskürtmeli kurutma sistemi performansının ölçümlerinden biri kurutma verimliliğidir (KV). Toz örneklerin kurutma verimliliği, elde edilen son ürün miktarının karışımdaki kuru madde miktarına oranlanarak (Denklem (3.11)) hesaplanmıştır:

$$KV(\%) = \frac{\text{Toplanan tozun ağırlığı}}{\text{Karışımındaki kuru madde miktarı}} \times 100 \quad (3.11)$$

3.7.2.3. Nem İçeriği

Mikrokapsüllerin nem içerikleri, hızlı nem analiz cihazıyla (Kern DBS 60-3, Balingen, Almanya) belirlenmiş olup, numuneler 70 °C’de bir etüvde 24 saat boyunca kurutulmuş ve sabit ağırlığa ulaşana kadar bekletilmiştir; kurutma öncesinde ve sonrasında ağırlık farkı gravimetrik olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar % kuru madde (% KM) olarak hesaplanmıştır.

3.7.2.4. Su Aktivitesi

Mikrokapsüllerin su aktivitesi ölçümü, oda sıcaklığında (25 ± 1°C) bir su aktivitesi ölçer (Testo 650 Su Aktivitesi Sistemi, Cole–Parmer, Vernon Hills, IL, ABD) ile yapılmıştır.

3.7.2.5. Çözünürlük Analizi

Mikroenkapsüllerin çözünürlük analizi, Şahin-Nadeem ve diğ. tarafından açıklanan yöntemle gerçekleştirilmiştir [163]. Toz numunelerin çözünürlük analizinde 0.5 g numune tartılmıştır. Üzerine 50 mL su ilave edilmiştir. Daha sonra karışım manyetik karıştırıcıda 600 rpm’de 5 dakika boyunca karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltiler falkon tüplerine aktarıldıktan sonra 3000 g kuvvetinde 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte kalan fazın 20 mL’si petrilere aktarılmıştır ve 70°C’de sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilmiştir. Çözünürlük (%) ağırlık farkından hesaplanmıştır [163].

3.7.2.6. Yığın Yoğunluğu Analizi

Numunelerin yığın yoğunluğu (ρ_b), Balcı-Torun ve Özdemir (2021) [164] prosedürü izlenerek kütle/hacim oranından hesaplanmıştır. 2 g numune tartıldıktan sonra, bu örnek 10 mL’lik bir ölçüm bandına yerleştirilmiştir. Numunelerin sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (ρ_t), toz ürünler arasında oluşan boşlukları ortadan kaldırmak için 2 g numunenin bulunduğu silindirik kabın elle 35 kez sert bir yüzeye vurulup sıkıştırılmasından sonra hacim okunarak kütle/hacim oranından hesaplanmıştır. ρ_b ve ρ_t sonuçları kg/m³ cinsinden verilmiştir. Ayrıca toz numunelerin CI değerleri, Denklem (3.12) kullanılarak hesaplanmıştır [165]:

$$CI (\%) = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \times 100 \quad (3.12)$$

Carr (1965) tarafından yapılan çalışmada, yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluk değerlerine dayanarak hesaplanan CI değerleri incelenmiştir. CI değerlerinin yorumlanmasında, 15’ten küçük olması durumunda performansın çok iyi olduğu; 15-20 arasında ise iyi olduğu; 20-35 arasında zayıf olduğu; 35-45 arasında kötü olduğu ve 45’ten büyük olduğunda ise performansın çok kötü olduğu belirtilmiştir.

3.7.2.7. Partikül Boyutu Ölçümü

Optimum toz numunelerinin partikül boyutu dağılımı, hacim ağırlıklı ortalama çap ($D_{[4,3]}$, (μm)), yüzey ağırlıklı ortalama çap ($D_{[3,2]}$ (μm)), açıklık (span), d_{90} , d_{10} ve d_{50} değerleri dahil olmak üzere, bir partikül boyutu analizi cihazının sıvı modülü (Malvern, Mastersize 2000, ıslak dispersiyon ünitesi, Birleşik Krallık) kullanılarak lazer kırınım prensibine dayanarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, püskürtmeli kurutma ile elde edilen yaklaşık 0.5-1 g mikrokapsülün %1 konsantrasyonunda 2-propanol çözeltisinde dağıtılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Parçacık boyutu dağılımı doğru bir şekilde ölçülene kadar prosedür tekrarlanmıştır.

Toz ürünün parçacık boyutu, hacim ağırlıklı ortalama çap ($D_{[4,3]}$) olarak ifade edilmiş ve Denklem (3.13) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$D_{[4,3]} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (3.13)$$

n_i çapı d_i olan parçacıkların sayısını belirtir. Açıklık, parçacıkların yığındaki dağılımını ifade eder ve Denklem (3.14)'e göre hesaplanır:

$$\text{Açıklık} = \frac{d_{90}-d_{10}}{d_{50}} \quad (3.14)$$

Tozların ayırt edici boyut özellikleri d_{90} , d_{50} ve d_{10} değerleri kullanılarak ölçülmüştür [166]. d_{90} , d_{10} ve d_{50} sırasıyla %90, %10 ve %50 kümülatif hacim ile eşdeğer hacimsel çapları temsil etmektedir.

3.7.2.8. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Partikül Morfolojisinin Belirlenmesi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss Leo 1430, Oberkochen, Almanya), optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin morfolojisini değerlendirmek için kullanılmıştır (Şekil 3.13). Mikrokapsüller, çift taraflı yapışkan karbon bantlarla SEM tutamlarına sabitlenmiş üzerlerine 10 nm altın kaplama uygulanmıştır.



Şekil 3.13: Taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss Leo 1430, Oberkochen, Almanya).

3.8. DENEYSEL TASARIM

3.8.1. İyonik Jelleşme Prosesinin Deneysel Tasarımı

Box-Behnken-YYM, Design-Expert yazılımı (12.0.1.0 sürümü, StatEase Inc., ABD) aracılığıyla, iyonik jelleşme sürecindeki bağımsız değişkenlerin bağımlı (yanıt) değişkenler üzerindeki etkisini araştırmak için kullanılmıştır. Ayrıca, bitkisel ekstraktların aktif maddelerinin aljinat boncuklara hapsedilmesi için iyonik jelleşme sürecinin modellenmesi ve optimizasyonu da aynı yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. İyonik jelleşme sisteminin cevap değişkenleri olarak, mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği ve antioksidan aktivitesi seçilmiştir. Bağımsız değişkenler olarak ise kalsiyum klorür konsantrasyonu, sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi seçilmiştir. Tablo 3.3, aljinat taneciklerinde aktif maddelerin mikrokapsülasyonu için Box-Behnken tasarımı-YYM kullanılarak oluşturulan 17 kombinasyonu içeren tasarım matrisini sunmaktadır.

Tablo 3.3: Bitkisel ekstraktların aljinat taneciklerinde iyonik jelleşme yöntemiyle mikrokapsülasyonu için Box-Behnken tasarımı-YYM ile oluşturulan tasarım matrisi.

Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)
1	2	1.5	45
2	8.5	15	30
3	8.5	2	15
4	8.5	1.5	30
5	8.5	1.5	30
6	2	1.5	15
7	8.5	2	45
8	2	2	30
9	15	2	30
10	8.5	1	15
11	15	1.5	45
12	8.5	1.5	30
13	15	1	30
14	8.5	1.5	30
15	8.5	1	45
16	2	1	30
17	15	1.5	15

Hibiskus, kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu biyoatıklarının iyonik jelleşme prosesinde optimizasyonun amacı toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliğini ve antioksidan aktivite cevap değişkenlerini maksimize etmektir. Zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelyasyonunda ise mikrokapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği (EE_{TFM}) ve oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ($EE_{Oleuropein}$) cevap değişkenleri olarak seçilmiş ve bu değişkenler optimizasyon ile maksimize edilmiştir. Laboratuvar çalışmaları sırasında HPLC’de yaşamış olduğumuz teknik problemlerden dolayı diğer mikrokapsüllerde kromatografik çalışmalar yapılamamıştır.

3.8.2. Püskürtmeli Kurutma Prosesinin Deneysel Tasarımı

Püskürtmeli kurutma sisteminin deneysel tasarımı, modellenmesi ve optimizasyonu için özel tasarım (custom design) altında bulunan kombine tasarım (combined design) seçilerek I-optimal dizayn alt türü uygulanmıştır. Duvar malzemeleri olarak Arap zıncı, maltodekstrin ve bunların karışımı kullanılmıştır. Bu süreçte, karışımdaki Arap zıncı oranı ve maltodekstrin oranı sırasıyla bağımsız parametreler (formülasyona bağlı) olarak belirlenmiştir. Tüm işlemler için duvar malzemesi oranı %10 ile sınırlandırılmıştır (%0, %2,5, %5, %7,5 ve %10, w/v). Öte yandan, kurutma havası giriş sıcaklığı (130, 145, 160, 175 ve 190°C) mevcut kapsülleme sistemi için bir başka bağımsız faktör (süreçle ilgili parametre) olarak ele alınmıştır. Tablo 3.4, aktif maddelerin püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu I-optimal tasarımı

kullanılarak oluşturulan 19 kombinasyonu içeren tasarım matrisini sunmaktadır. Bu mikrokapsülasyon sistemi için optimizasyonun amacı toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliğini, kurutma verimliliğini, antioksidan aktivite cevap değişkenlerini maksimize etmektir. Ayrıca hibiskus, vişne ve erik kabuklarında (pembe/bordo renkte ürünler) verilmiş olan cevap değişkenlerine ilave olarak toplam antosiyanin içeriği de optimizasyon ile maksimize edilmiştir.

Tablo 3.4: Bitkisel ekstraktların püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan tasarım matrisi.

Deney No	A: Arap zamkı (%, w/v)	B: Maltodekstrin (%, w/v)	C: Giriş sıcaklığı (°C)
1	2.5	7.5	145
2	5	5	160
3	2.5	7.5	130
4	7.5	2.5	145
5	5	5	190
6	10	0	130
7	0	10	160
8	0	10	190
9	2.5	7.5	175
10	5	5	130
11	7.5	2.5	175
12	10	0	190
13	10	0	160
14	0	10	160
15	10	0	160
16	5	5	190
17	5	5	160
18	0	10	130
19	5	5	160

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. İYONİK JELASYON YÖNTEMİYLE MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI

4.1.1. Aljinat Boncuklarında Zeytin Yapağı Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu

4.1.1.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Tablo 4.1, Box-Behnken-YYM'ye bağlı deneysel çalışmanın tasarım matrisini sunmaktadır.

EE_{TFM} ve $EE_{oleuropein}$ açısından bulgular da Tablo 4.1'de verilmiştir.

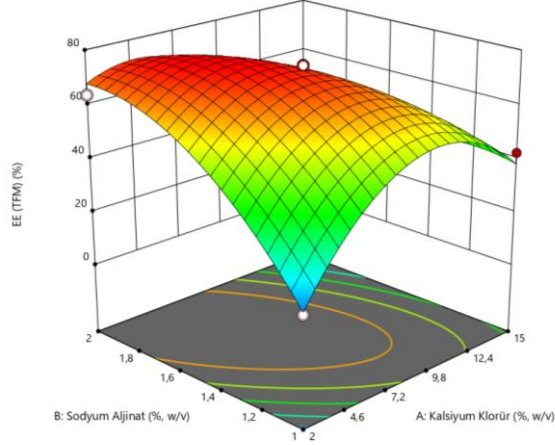
Tablo 4.1: Zeytin yapağı ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.

Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)	EE_{TFM} (%)	$EE_{oleuropein}$ (%)
1	2	1.5	45	36.230	89.286
2	8.5	15	30	73.564	66.508
3	8.5	2	15	54.77	73.071
4	8.5	1.5	30	72.511	64.589
5	8.5	1.5	30	67.057	68.386
6	2	1.5	15	45.692	78.711
7	8.5	2	45	40.912	78.588
8	2	2	30	63.773	89.926
9	15	2	30	6.225	43.077
10	8.5	1	15	28.456	75.429
11	15	1.5	45	19.571	69.141
12	8.5	1.5	30	75.049	70.909
13	15	1	30	42.53	90.811
14	8.5	1.5	30	74.454	69.691
15	8.5	1	45	41.231	78.855
16	2	1	30	13.842	75.936
17	15	1.5	15	13.008	69.531

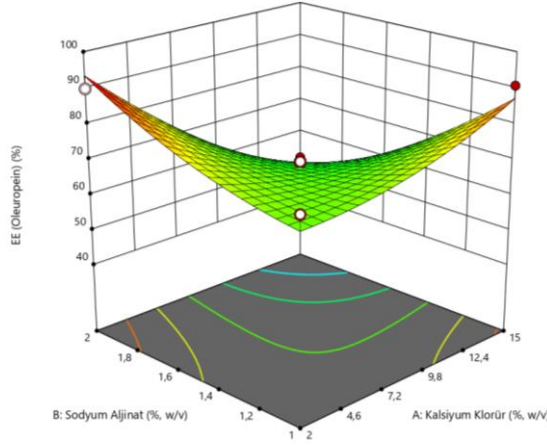
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Design Expert programı, bu sistem için 5 merkez noktalı (%8.5 kalsiyum klorür, %1.5 sodyum aljinat ve 30 dakika) 17 deneysel çalışma üretmiştir. TFM'ye göre kapsülleme etkinliği %6.225 'den %75.049 'a değişirken, oleuropein açısından etkinlik %43.077 ile %90.811 arasında değişmiştir. Şekil 4.1, zeytin yapağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği

üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

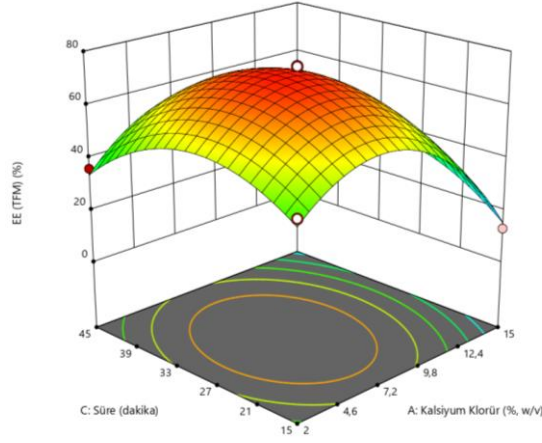
Şekil 4.1: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.

Şekil 4.1a’da görüldüğü gibi sodyum aljinat konsantrasyonun artmasıyla birlikte kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliğinin önce parabolik olarak belirli bir noktaya kadar arttığı ve bu noktadan sonra pek değişmediği görülmüştür. Ayrıca kalsiyum klorür konsantrasyonu arttıkça kapsüllerin toplam fenolik içerik açısından enkapsülasyon etkinliğinin önce parabolik olarak belirli bir noktaya kadar arttığı, daha sonra azaldığı görülmüştür. Aljinat çözeltisi aracılığıyla Ca^{2+} iyonlarının (iki değerlikli iyon) varlığında mikrokapsüller üretildiğinden bu bulgu beklenen bir durumdur [167]. Bu nedenle, optimum

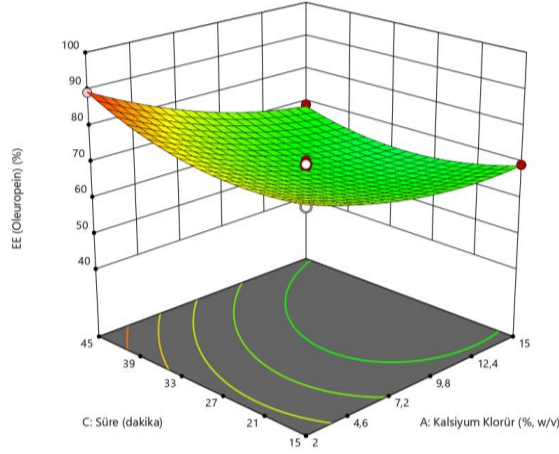
konsantrasyon (kalsiyum klorür), en yüksek enkapsülasyon etkinliğini oluşturur. Bu optimal noktadan sonra, daha küçük boyutlarda daha sert mikro boncukların oluşması nedeniyle EE azalmaya başlar [53]. Zam ve diğ. aljinat taneciklerinde nar kabuğu antioksidanlarının mikrokapsülasyon verimi üzerinde aynı kalsiyum klorür etkisini bildirmiştir [168]. CaCl_2 miktarının arttırılması, ilk başta iyonik jelleşmeyi desteklemiştir. Daha sonra, polimer zincirindeki aktif Ca bağlanma yerlerinin doymuş olabileceği gerçeği nedeniyle EE_{TFM} düşmeye başlamıştır.

Şekil 4.1b’de görüldüğü gibi, kapsüllerin oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği, kalsiyum klorür ve sodyum aljinat oranları arttıkça artmıştır. Benzer gözlemler, melisa özütünün iyonik jelasyon ile kapsüllenmesinde de rapor edilmiştir. Sodyum aljinat konsantrasyonunun %0.08’den %0.92’ye (w/v) arttırılması, melisa ekstresi içeren aljinat hidrojellerinde polifenol verimi açısından EE_{TFM} ’yi (%14.17’den %17.66’ye) arttırmıştır [169]. Aljinat oranındaki artış kapsül membranının kalınlığını arttırır, bu da aktif maddenin çözelti içerisine kaçmasının engellenmesine neden olur [167]. Wissam ve Samer (2019) ayrıca, keten tohumu yağı özü içeren hidrojellerin EE’si üzerinde aljinatın benzer etkisini rapor etmiştir [170]. Sodyum aljinat miktarının artmasının polimer zincirindeki aktif kalsiyum bağlama bölgelerini artırdığı ve bunun daha fazla çapraz bağlanmaya yol açtığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Zam ve diğ., aljinat boncuklarında nar kabuğu antioksidanlarını içeren EE üzerinde aynı etkiyi gözlemlemişlerdir [168]. Aljinat miktarının %1’den %3’e (w/v) arttırılmasıyla, TFM ve proantosiyanidinlere göre enkapsülasyon etkinliğinde artış sağlanmıştır. Polifenollerin ve proantosiyanidinlerin enkapsülasyon etkinliği sırasıyla %33 ve %29’a kadar artmıştır.

Şekil 4.2, zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

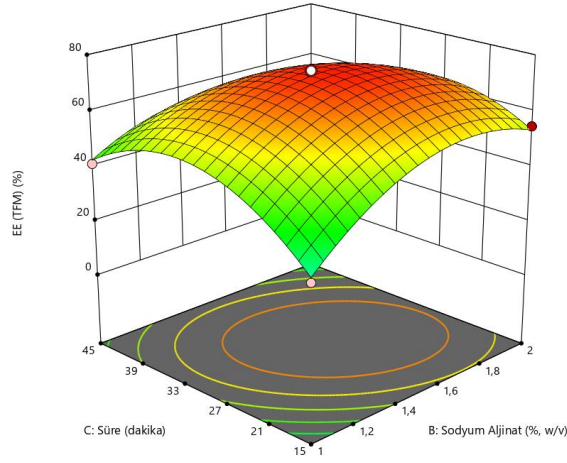
Şekil 4.2: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Hidrojellerin CaCl_2 jelleşme banyosunda tutulması da mikrokapsüllerin formülasyonu için öne çıkan diğer bir parametredir. Bu nedenle, mevcut iyonik jelleşme sisteminde sertleşme süresi bağımsız bir değişken olarak seçilmiştir. Sertleşme süresinin artmasıyla birlikte toplam fenolik içerik açısından kapsülleme etkinliği önce artmış, daha sonra azalmıştır (Şekil 4.2a). Benzer şekilde, Celli ve diğ., aljinat boncuklarda haskap üzümlerinden antosiyaninlerin mikrokapsülasyonu üzerinde jel süresi etkisinde benzer bir eğilim bildirmiştir [171].

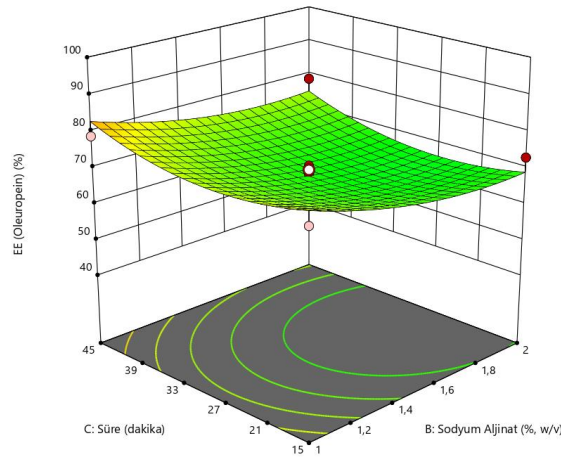
Banyoda sertleşme süresine aşırı maruz kalma, biyoaktif maddelerin (oleuropein dışındaki) çözeltiye kaçmasına neden olabilir [172]. Bu nedenle, bireysel fenolik bileşiğin (oleuropein) verimi, sertleşme süresi ile düzenli olarak artmıştır (Şekil 4.2b). Bu durum,

kalsiyum iyonları ile aljinat arasındaki bağlantı süresinin, mikrokapsüllerin jelasyonuna dayanıklılık kazandırdığı gerçeği ile açıklanabilir [173].

Şekil 4.3, zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, sodyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir. Aljinat taneciklerinde zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelasyonu ile elde edilen mikrokapsüllerde, EE_{TFM} ve $EE_{Oleuropein}$ için bu formülasyon parametrelerine yönelik benzer eğilimler Şekil 4.2’de de gözlemlenmiştir. Şekil 4.3a ve Şekil 4.3b’de, sırasıyla, bu formülasyon parametrelerinin etkileri sunulmuştur.



(a)



(b)

Şekil 4.3: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon

etkinliği ve (b) oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.3a’da görüldüğü gibi, sodyum aljinat oranındaki artış ile kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliğinin önce belirli bir noktaya kadar parabolik bir şekilde arttığı belirli bir noktadan sonra ise pek değişmediği görülmüştür. Ayrıca, sertleşme süresindeki artış ile toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliğinin önce parabolik olarak belirli bir noktaya kadar arttığı, ancak belirli bir noktadan sonra ise azaldığı görülmüştür. Şekil 4.3b’de ise, sodyum aljinat oranındaki artışın enkapsülasyon etkinliğini oleuropein içeriği açısından önemli ölçüde etkilemediği ancak sertleşme süresindeki artışın enkapsülasyon etkinliğini oleuropein içeriği açısından artırdığı görülmüştür.

4.1.1.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması

Box-Behnken-YYM çalışmasına bağlı olarak Design-Expert yazılımı ile varyans analizi (ANOVA) testi de uygulanmıştır. Ayrıca bu yazılım ile F ve p-değerleri, uyum eksikliği (lack of fit) değeri, determinasyon katsayısı (R^2), ayarlanmış determinasyon katsayısı (R^2_a), tahmini determinasyon katsayısı (R^2_t) ve varyasyon katsayısı (CV) gibi istatistiksel ölçütler de hesaplanmıştır. Denklem (4.1) ve Denklem (4.2) sırasıyla EE_{TFM} ve $EE_{oleuropein}$ için kodlanmış faktörler açısından Design-Expert tarafından türetilmiş olan son denklemleri vermektedir. Tablo 4.2 ve Tablo 4.3, aljinat boncuklarda zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşmesinde EE_{TFM} ve $EE_{oleuropein}$ için hesaplanan ANOVA test sonuçlarını göstermektedir. Her iki yanıt değeri için üretilen ikinci dereceden polinom denklemleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

$$EE_{TFM} = 72.53 - 9.78A + 4.95B - 0.4978C - 21.56AB + 4.01AC - 6.66BC - 26.83A^2 - 14.11 B^2 - 17.08C^2 \quad (4.1)$$

$$EE_{oleuropein} = 68.02 - 7.66A + 4.55B + 2.39C - 15.43AB - 2.74AC + 0.5227BC + 3.55A^2 + 3.37 B^2 + 5.10C^2 \quad (4.2)$$

Tablo 4.2: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

EE _{TFM}	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	8696.25	9	966.25	59.83	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	764.46	1	764.46	47.33	0.0002	
B- Sodyum Aljinat	196.23	1	196.23	12.15	0.0102	
C- Sertleşme Süresi	1.98	1	1.98	0.1227	0.7364	
AB	1859.16	1	1859.16	115.12	< 0.0001	
AC	64.20	1	64.20	3.98	0.0864	
BC	177.33	1	177.33	10.98	0.0129	
A²	3029.98	1	3029.98	187.61	< 0.0001	
B²	838.13	1	838.13	51.90	0.0002	
C²	1277.75	1	1277.75	76.02	< 0.0001	
Kalıntı	113.05	7	16.15			
Uyum Eksikliği	71.98	3	23.99	2.34	0.2151	önemsiz
Saf Hata	41.07	4	10.27			
Kor Toplam	8809.30	16	966.25		< 0.0001	
CV: % 8.89	R ² =0.9872		R ² _a =0.9707		R ² _t =0.8620	

Tablo 4.3: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin oleuropein içeriği açısından kapsülleme etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

EE _{Oleuropein}	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1898.26	9	210.92	10.01	0.0031	önemli
A-Kalsiyum Klorür	469.70	1	469.70	22.30	0.0022	
B- Sodyum Aljinat	165.34	1	165.34	7.85	0.0265	
C- Sertleşme Süresi	45.74	1	45.74	2.17	0.1841	
AB	952.46	1	952.46	45.22	0.0003	
AC	30.06	1	30.06	1.43	0.2712	
BC	1.09	1	1.09	0.0519	0.8263	
A²	53.10	1	53.10	2.52	0.1564	
B²	47.81	1	47.81	2.27	0.1756	
C²	109.49	1	109.49	5.20	0.0566	
Kalıntı	147.45	7	21.06			
Uyum Eksikliği	122.12	3	40.71	6.43	0.0521	önemsiz
Saf Hata	25.33	4	6.33			
Kor Toplam	2045.71	16				
CV: % 6.23	R ² =0.9279		R ² _a =0.8353		R ² _t =0.0255	

F ve p değerleri, ANOVA gibi istatistiksel testlerde önemli olan iki temel değerdir. Kullanılmış olan istatistiksel deneysel tasarım yönteminde p değeri, bir parametrenin istatistiksel olarak önemli olup olmadığını belirlerken, F değeri bir parametrenin etkisinin büyüklüğünü gösterir. Ancak, yalnızca bir parametrenin F değerinin büyük olması, onun etkisinin büyük olduğu anlamına gelmez. Bu nedenle, hem F hem de p değerleri dikkate alınmalı ve birlikte yorumlanmalıdır.

Kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.2’de görüldüğü üzere modele ait p değeri <0.0001 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, bağımsız değişkenlerden en az birinin kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir ($p<0.05$). Ayrıca, modele ait F değeri 59.83’tür, ki bu da modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Kalsiyum klorür konsantrasyonunun ikinci dereceden gücü (A^2) etkili parametre olarak bulunmuş, bunu kalsiyum klorür konsantrasyonu ile sodyum aljinat konsantrasyonu arasındaki etkileşim (AB) ve sertleşme süresinin ikinci dereceden gücü (C^2) parametreleri izlemiştir ($p<0.0001$). 0.0500’dan küçük p değerleri model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir. Bu durumda B^2 , A, B, BC parametreleri de $p<0.05$ ’te anlamlı bulunmuştur. Tablo 4.2 ‘de görüldüğü gibi, kalsiyum klorür sertleşme süresi arasındaki etkileşim (AC) ve sertleşme süresi (C) parametrelerinin kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$).

Deneysel verilerden türetilen ikinci dereceden polinom denklemlerinin her birinin verilere uygunluğunu değerlendiren önemli bir gösterge, uyum eksikliği (Lack of fit) değeridir. Eğer bir modelde belirgin bir uyum eksikliği mevcutsa ($p < 0.05$), o model tahminler için uygun değildir. Dolayısıyla, cevap değeri için oluşturulan modelde uyum eksikliği değerinin 0.05’ten büyük olması, kullanılan modelin verilere uygun olduğunu doğrulamaktadır. Bu durumda, uyum eksikliği testinde hesaplanan p değeri 0.2151 olarak bulunmuş ve bu değer, uyum eksikliğinin önemsiz olduğunu göstermektedir ($p > 0.05$). Ayrıca, uyum eksikliği testinde F değerinin 2.34 olması, uyum eksikliğinin saf hataya göre anlamlı olmadığını göstermektedir.

Güvenilir sonuçların elde edilmesinde bir diğer önemli ölçüt varyasyon katsayısıdır (CV). Varyasyon katsayısı, standart sapmanın ortalama değere oranını ifade eder. Yüksek bir CV değeri, verilerin ortalama etrafında geniş bir dağılıma sahip olduğunu gösterir. Bu nedenle, CV değerinin %10’un altında olması tercih edilir çünkü bu, verilerin güvenilirliği için yeterli bir düzeyde istikrarı temsil eder. Tablo 4.2’de de görüldüğü üzere elde ettiğimiz sonuçlara göre, CV değerimiz %10’dan düşüktür, bu da deneysel verilerimizin güvenilirliği için olumlu bir göstergedir.

Kapsüllerin oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.3’de görüldüğü üzere modele ait p değeri 0.0031 olarak hesaplanmış olup bağımsız değişkenlerden en az birinin kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği üzerinde istatistiksel olarak önemli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca, modele

ait F değeri 10.02 olup, bu değer modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. p değeri 0.0003 olan ve F değeri 45.22 olan kalsiyum klorür konsantrasyonu ve sodyum aljinat konsantrasyonu arasındaki etkileşim (AB) en etkili parametre olarak bulunmuştur. Bunu, p değeri 0.0022 ve F değeri 22.30 olan kalsiyum klorür konsantrasyonu (A) ve p değeri 0.0265 ve F değeri 7.85 olan sodyum aljinat konsantrasyonu (B) takip etmiştir. Kalsiyum klorür konsantrasyonu- sertleşme süresi (AC) ve sodyum aljinat konsantrasyonu-sertleşme süresi (BC) etkileşimlerinin kapsüllerin oleuropein içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği üzerinde önemli bir düzeyde etkisinin bulunmadığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde, sertleşme süresinin (C) $EE_{Oleuropein}$ üzerinde önemli düzeyde etkisinin bulunmadığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$). Tablo 4.3'te görüldüğü gibi, $EE_{Oleuropein}$ için parametrelerin ikinci kuvvetleri (A^2 , B^2 ve C^2) istatistiksel olarak etkili bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca uyum eksikliği (Lack of fit) testinde elde edilen 0.0521 p değeri ve 6.43 F değeri, modelin verilere iyi uyum sağladığını ve istatistiksel olarak anlamlı bir uyum eksikliği olmadığını göstermektedir ($p>0.05$). %10'dan düşük bulunan varyasyon katsayısı (CV) değeri, deneysel verilerin doğruluğunu ve çalışmanın hassasiyetini desteklemektedir.

EE_{TFM} ve $EE_{Oleuropein}$ yanıt değişkenleri için önerilen modellerin R^2 değerleri sırasıyla 0.9872 ve 0.9279 olarak bulunmuş olup, deneysel verilerdeki değişkenliğin %98.72 ve %92.79'unun bu modellerle açıklanabildiğini göstermektedir. Ayrıca, her iki modelin R_a^2 değerleri de sırasıyla 0.9707 ve 0.8353 olarak bulunmuştur, bu da öngörülen ve deneysel değerler arasında yüksek bir uyumluluk oranı olduğunu belirtmektedir (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

4.1.1.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

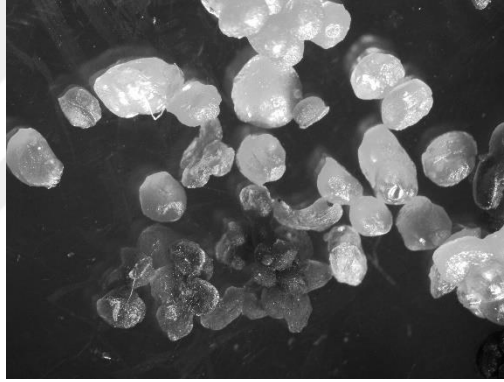
Aljinat mikro boncuklarda zeytin yaprağı ekstraktının mikrokapsülasyonu için maksimum EE_{TFM} ve $EE_{Oleuropein}$ elde etmek için bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsülasyon için optimum koşullar; Tablo 4.4'te belirtildiği gibi %2.34 kalsiyum klorür konsantrasyonu, %2 sodyum aljinat konsantrasyonu ve 26 dakikalık sertleşme süresi olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında, maksimum EE_{TFM} ve $EE_{Oleuropein}$ verimi sırasıyla %70.68 ve %90.81 olarak hesaplanmıştır. Optimum koşulların doğrulanması da gerçekleştirilmiştir. Doğrulama bulgularına göre, tahmin edilen ve deneysel veriler arasındaki farkın %2'nin altında olması, yanıt yüzey metodu ile türetilen ikinci dereceden model denklemlerinin güvenilirliğini göstermektedir.

Tablo 4.4: Zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç (%)	DeneySEL Sonuç (%)	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (dakika)				
2.338	2.000	25.959	EE _{TFM} (%)	70.678	71.656	1.38
			EE _{Oleuropein} (%)	90.811	88.787	2.23

4.1.1.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi

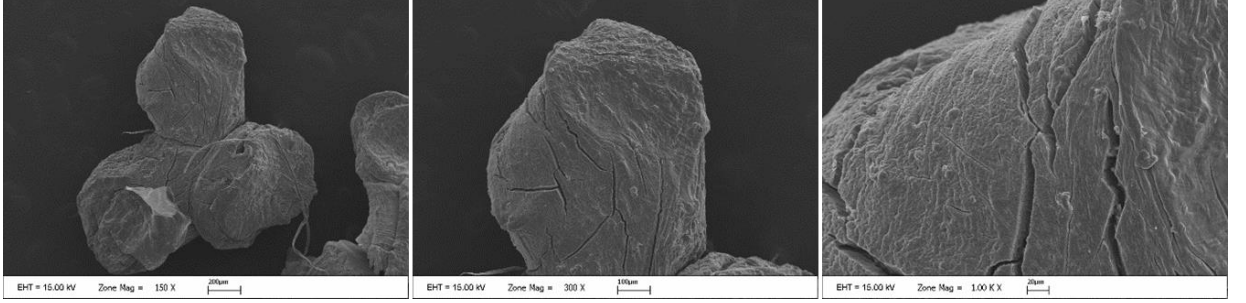
Şekil 4.4, aljinat boncuklar kullanılarak iyonik jelleşme yöntemi ile optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin görüntülerini sunmaktadır. Mikrokapsül analizleri sonucunda elde edilen küresellik değeri (KD) 0.0592 ± 0.0201 , şekil faktörü (SF) ise 1.2046 ± 0.0151 olarak ölçülmüştür. Genel olarak elde edilen kapsüllerin minimum, ortalama ve maksimum çap değerleri sırasıyla 0.152 ± 0.018 mm, 0.161 ± 0.014 mm ve 0.175 ± 0.017 mm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.4: Optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.

Küresellik değeri, minimum kapsül çapının maksimum kapsül çapına oranı ile hesaplanmıştır. Bu çoğunlukla gözyaşı damlası ve armut biçimli parçacıklar için kullanılır. Minimum ve maksimum çapların birbirlerine oranı ile hesaplanan KD'nin mükemmel bir kürede sıfıra yakın olması beklenirken, 0.05'ten küçük olması da kabul edilebilir. Parçacıkların küresel ve eliptik özelliklerini belirlemek için sıklıkla şekil faktörü değeri kullanılır. SF ve KD değerleri küreselliğin ne kadar mükemmel olduğunu gösterse de KD değerinin aksine SF değerinin 1'e yakın olması beklenir [162]. Şekil 4.5, zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin SEM görüntülerini göstermektedir. Kapsüller genel olarak küresel ve pürüzsüz bir yapıya sahip olmalarına rağmen, yüzeylerinde gözlemlenen kırık ve çatlak yapılar, kurutma işlemi sırasında meydana gelen hızlı veya dengesiz kuruma, kapsül bileşiminin etkisi ve depolama koşullarından kaynaklanabilir. Bu durum, kapsüllerin içindeki bileşenlerin

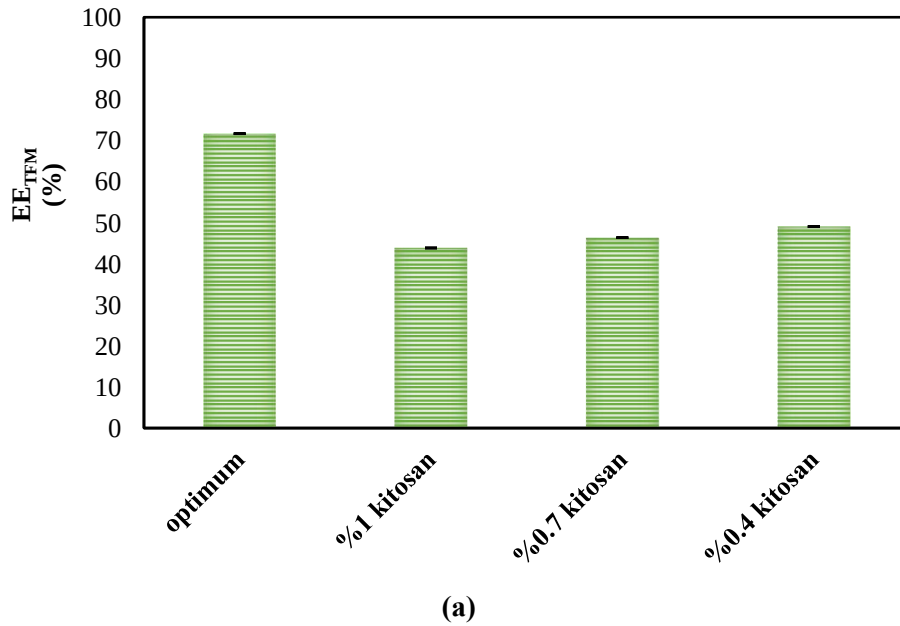
kurutma işlemine farklı tepki vermesiyle veya uygun olmayan depolama koşullarının etkisiyle ortaya çıkabilir. Bu faktörlerin kombinasyonu, kapsül yüzeyinde kırık ve çatlak yapıların gözlenmesine ve yüzeyin daha pürüzlü hale gelmesine neden olabilir [174].

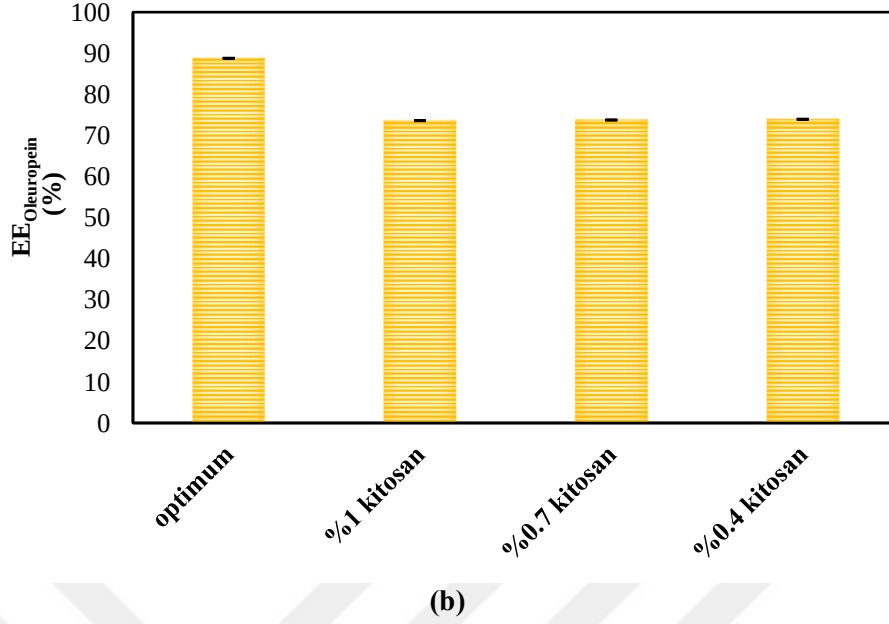


Şekil 4.5: Zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.

4.1.1.5. Aljinat ve Aljinat-Kitosan Mikrokapsüllerin Enkapsülasyon Etkinliği ve Stabilitesi: Karşılaştırmalı Değerlendirme

Zeytin yaprağı ekstraktının aljinat taneciklerine iyonik jelleşme ile mikrokapsülasyonu için optimum koşullar belirlendikten sonra, aynı koşullar altında aljinat-kitosan mikrokapsülleri hazırlanmıştır. Duvar malzemesi olarak üç farklı oranda kitosan (%0.4, %0.7, %1) sodyum aljinat ile birlikte uygulanmıştır. Kitosan materyali ile kaplama, kitosan oranından bağımsız olarak enkapsülasyon etkinliğinde bir düşüşe neden olmuştur. Şekil 4.6'da gösterildiği gibi, aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerin EE_{TFM} değeri, aljinat mikrokapsüllere kıyasla %32-39 oranında azalma gösterirken, $EE_{Oleuropein}$ değeri yaklaşık %17 oranında azalmıştır.

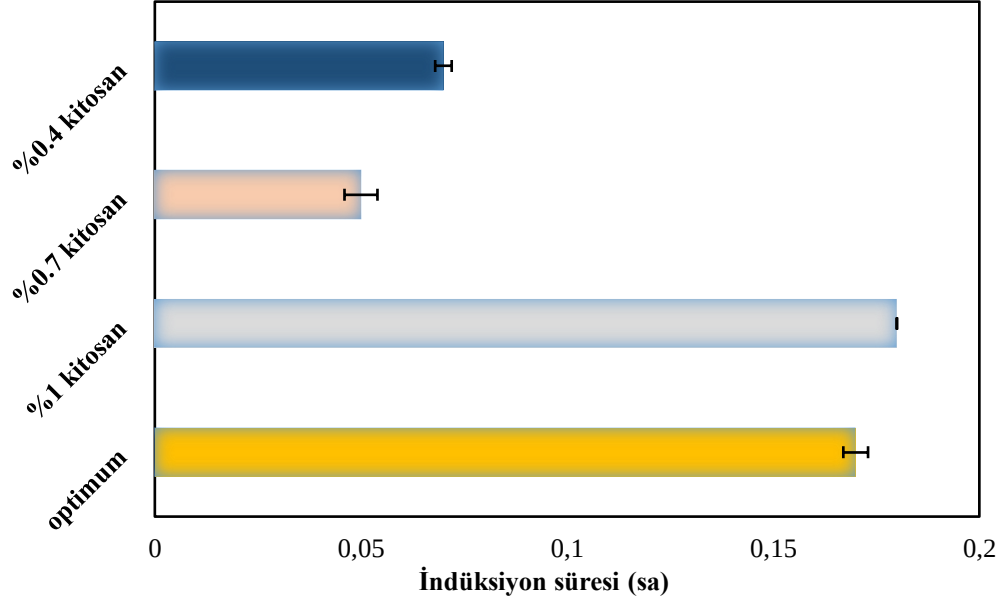




Şekil 4.6: Optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat ve aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerin (a) EE_{TFM} ve (b) EE_{Oleuropein} değerleri.

Benzer şekilde, Najafi-Soulari ve diğ., melisa özütü içeren aljinat taneciklerinin kitosan ile kaplanması sonucunda EE_{TFM}'de ~33% azalma olduğunu rapor etmiştir [169]. Bu durumu mikro boncukların sertleşme süresi boyunca aljinat-kitosan duvar yapısının gözenekli yapısından melisa özütünün çözeltiye kaybı ile açıklamışlardır. Takka ve Gürel (2010) tarafından yapılan çalışmada, mikro boncuklardaki kitosanın kapsülleme etkinliği üzerinde benzer bir olumsuz etki gözlemlenmiştir [175]. Araştırmacılar, kitosan ilavesinin mikrokapsülasyon verimini olumsuz yönde etkilediğini ve aglomerasyona neden olduğunu belirtmişlerdir.

Mikrokapsüllenmiş aktif maddelerin oksidasyona karşı stabilitesini ölçmek için hızlandırılmış oksidasyon testi (Ransimat yöntemi) kullanılmıştır [71]. Ransimat yöntemi, Ransimat 892 cihazı (Metrohm, 892, Herisau, İsviçre) vasıtasıyla uygulanmıştır. Yaklaşık 100 mg kapsül numunesi cihazın tüplerine yerleştirilmiştir. Numuneler 20 L/sa saflaştırılmış hava akış hızı altında 140°C' de ısıtılmıştır. Ölçüm kabında 60 mL ultra saf su kullanılmıştır. Kapsüllerin oksidasyona karşı stabilitesi, indüksiyon süresi olarak verilmiştir. Şekil 4.7, optimum koşullar altında üretilen aljinat mikrokapsüllerinin yanı sıra farklı konsantrasyonlara sahip aljinat-kitosan mikrokapsüllerinin indüksiyon süresi değerlerini göstermektedir.

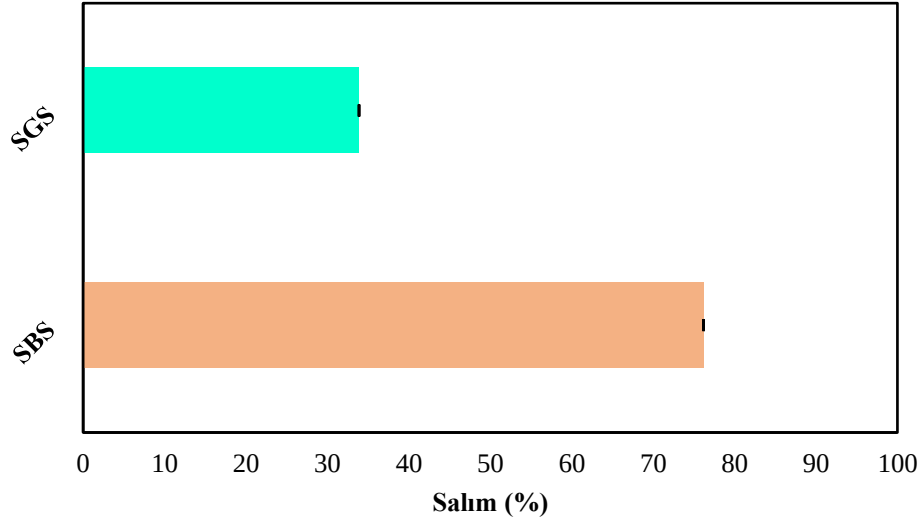


Şekil 4.7: Optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat ve aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerin indüksiyon süresi değerleri. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.7’den görüldüğü üzere, aljinat-kitosan kaplı mikrokapsüllerde kitosan oranları %1’in (w/v) altında olduğunda oksidatif stabilitenin büyük ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Besiyerindeki kitosan miktarı yetersiz olduğunda, aljinat-kitosan arasındaki bağ düşük olabilir, bu da gözenekli kapsül morfolojisine yol açabilir. Ancak, kitosan oranı %1 (w/v) olduğunda indüksiyon süresinde çok hafif bir (%5.88 oranında) bir artış gözlenmiştir. Jelleşme ortamındaki kitosan, aljinat partikülündeki içi boş yapıyı doldurmaya yetecek kadar yeterliyse, daha sağlam bir yapı oluşturabilir [71]. Bu tez çalışması kapsamında, diğer kapsüller için optimum koşullarda kitosan etkisi incelenmemiştir. Çünkü kitosan ilavesinin kapsüllerde EE_{TFM} ve $EE_{Oleuropein}$ değerlerini düşürdüğü ve indüksiyon süresinde belirgin bir artışa neden olmadığı gözlemlenmiştir.

4.1.1.6. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen mikrokapsüllerin polifenol içeriğinin *in vitro* sindirimi ve salımı, gastrik (mide) ve bağırsak (intestinal) sıvılarının sindirim koşullarının simülasyonu ile belirlenmiştir. Toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiş olup, optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin simüle edilmiş gastrik sıvı (SGS, pH=1.5) ve simüle edilmiş bağırsak sıvısında (SBS, pH=7.4) salımı % olarak belirlenmiştir. Şekil 4.8, optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışını göstermektedir.



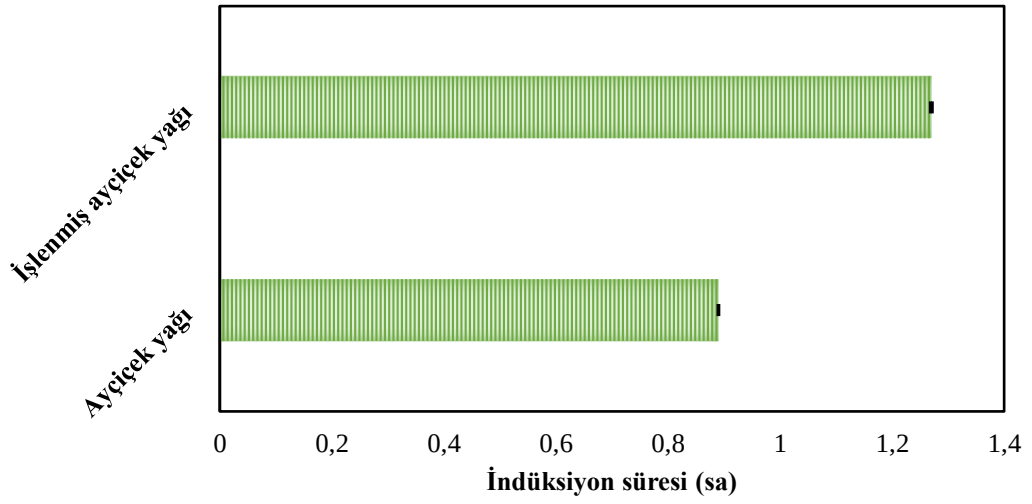
Şekil 4.8: Optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.8’den elde edilen sonuçlar, polifenolik bileşiklerin salımının, SBS’de SGS’ye göre daha fazla oranda gerçekleştiğini göstermektedir (%76.20’ye karşılık %33.88). Flores ve diğ., püskürtmeli kurutma yöntemi ile elde edilen Arap zıncı ve peynir altı suyu proteinleri içinde kapsüllenmiş yaban mersini ekstraktlarındaki polifenolik bileşiklerin *in vitro* salımını inceledikleri çalışmada benzer sonuçlar elde etmiştir [176]. Bu çalışma, iki farklı matrisin farklı davranışlar sergilediğini göstermiştir. Arap zıncı matrisi, polifenoller SBS’de SGS’ye göre daha kolay salarken, soya proteini polifenoller SGS’de yavaşça salmıştır. Ayrıca, SBS’de yüksek düzeyde polifenol ve antioksidan aktivitesi bulunmuştur. *In vitro* salım sırasında kapsüllerin davranışının, kapsüllemenin yapıldığı matrisin bileşimine, sindirim enzimlerine karşı direnç ve duyarlılığına, ayrıca sindirim sisteminin pH gibi koşullarına bağlı olduğu özetlenebilir [177].

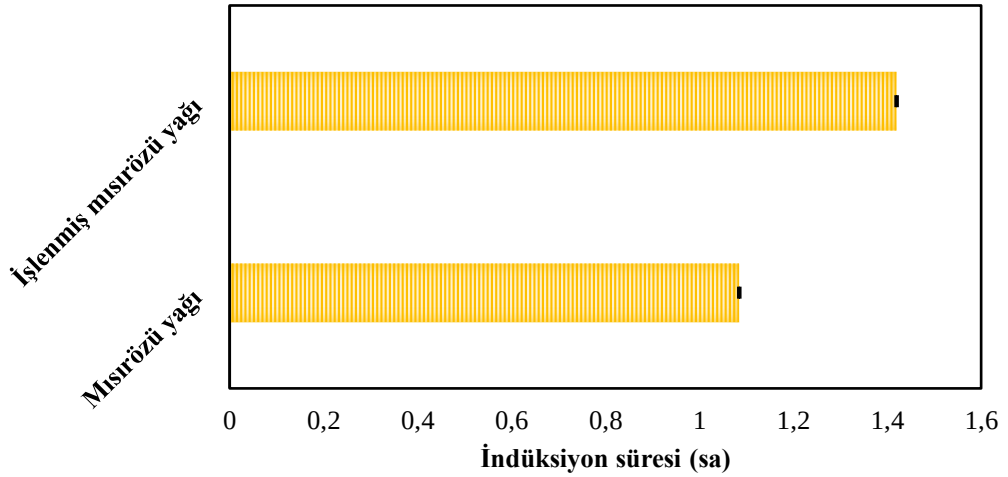
4.1.1.7. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Optimum iyonik jelleşme koşullarında üretilen zeytin yaprağı içeren aljinat mikrokapsülleri, gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmek üzere model gıda ürünlerine eklenmiştir. Model gıda ürünü olarak, bitkisel yağ türlerinden ayçiçek yağı ve mısırözü yağı tercih edilmiştir. Ayçiçek yağı ve mısırözü yağı, önemli miktarlarda çoklu doymamış yağ asitleri içermektedir. Bu yağ asitleri, insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olabilir; ancak, aynı zamanda oksidasyona karşı duyarlılık gösterirler. Mikrokapsülleme ve mikrokapsüllenmiş doğal antioksidanların kullanımı, bitkisel yağları oksidatif bozunmaya karşı korumada etkili yöntemler arasında yer almaktadır. Bu bağlamda, optimum iyonik jelleşme koşullarında elde

edilen mikrokapsüllerin, bitkisel yağların toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özellikleri ve oksidatif stabilitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Şekil 4.9, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkı) yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir. Şekil 4.9'dan görüldüğü üzere, doğal antioksidanların eklenmesi, her iki bitkisel yağın oksidatif stabilitesini artırmıştır. Optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş ayçiçek yağı ve mısırözü yağının indüksiyon süreleri, saf ayçiçek yağına ve mısırözü yağına göre sırasıyla %42.70 ve %30.88 oranında artmıştır



(a)



(b)

Şekil 4.9: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.5, sırasıyla saf yağ numunelerinin ve zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.5: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.040 ± 0.001	0.0520 ± 0.002
	İşlenmiş	0.109 ± 0.002	0.0696 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.058 ± 0.001	0.028 ± 0.002
	İşlenmiş	0.061 ± 0.002	0.070 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Mikrokapsül katkılı ayçiçek yağının biyoaktif özellikleri, saf ayçiçek yağına kıyasla TFM içeriği açısından ~1.73 kat, antioksidan aktivite açısından ise %33.85 oranında artmıştır. Benzer şekilde, mikrokapsül katkılı mısırözü yağının biyoaktif özellikleri, saf mısırözü yağına kıyasla TFM içeriği açısından %5.17 oranında, antioksidan aktivite açısından ise 1.5 kat artmıştır.

Bu bulgular, aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş bitkisel yağlarda oksidatif stabilite artışının yanında, toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivite gibi biyoaktif özelliklerde de artış olduğunu göstermektedir. Mikrokapsüllerin içerisindeki polifenol bileşikler, doğal antioksidanlar olup, yağlara eklenmeleriyle yağların toplam fenolik içeriğinin artmasına ve dolayısıyla antioksidan aktivitesinin artmasına katkıda bulunabilir. Ayrıca, polifenol bileşiklerinin antioksidan özellikleri, yağlardaki oksidasyon sürecini geciktirerek veya önleyerek oksidatif stabilitenin artmasına katkıda bulunabilir. Bu nedenle, mikrokapsül ilavesi sonucu gözlenen indüksiyon süresindeki artış, mikrokapsüllerin yapısındaki polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesiyle ilişkilendirilebilir.

4.1.2. Aljinat Boncuklarında Hibiskus Ekstraktının Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu

4.1.2.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Tablo 4.6, Box-Behnken-YYM tarafından tasarlanan iyonik jelleşme proses koşullarına bağlı olarak deneysel bulguları vermektedir. Mikrokapsüllerin toplam fenolik açısından enkapsülasyon etkinliği %59.92'den %89.01'e değişirken, kapsüllerin antioksidan aktivitesi gram kurutulmuş mikrokapsül başına 3.81 ile 4.98 mg-TEAC/g-KM arasında değişmiştir.

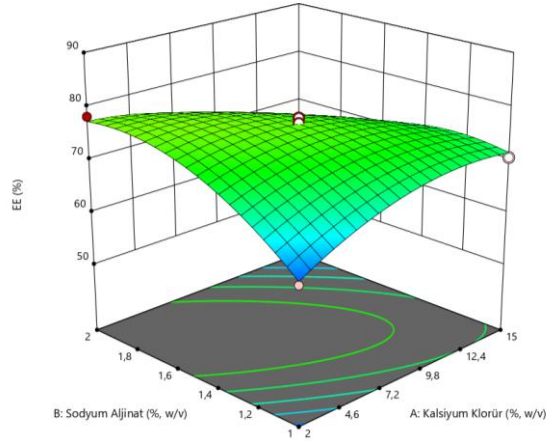
Tablo 4.5: Hibiskus ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken- tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.

Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)	EE (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2	1.5	45	74.18	3.85 ± 0.004
2	8.5	15	30	76.24	4.24 ± 0.001
3	8.5	2	15	89.01	4.98 ± 0.004
4	8.5	1.5	30	78.01	4.23 ± 0.003
5	8.5	1.5	30	76.66	4.28 ± 0.001
6	2	1.5	15	81.13	4.59 ± 0.003
7	8.5	2	45	59.92	3.81 ± 0.007
8	2	2	30	78.24	4.27 ± 0.001
9	15	2	30	61.07	3.94 ± 0.006
10	8.5	1	15	71.16	4.18 ± 0.005
11	15	1.5	45	65.54	3.94 ± 0.004
12	8.5	1.5	30	77.05	4.29 ± 0.003
13	15	1	30	70.61	4.00 ± 0.001
14	8.5	1.5	30	76.66	4.30 ± 0.002
15	8.5	1	45	77.21	4.26 ± 0.005
16	2	1	30	61.88	3.83 ± 0.004
17	15	1.5	15	82.19	4.35 ± 0.006

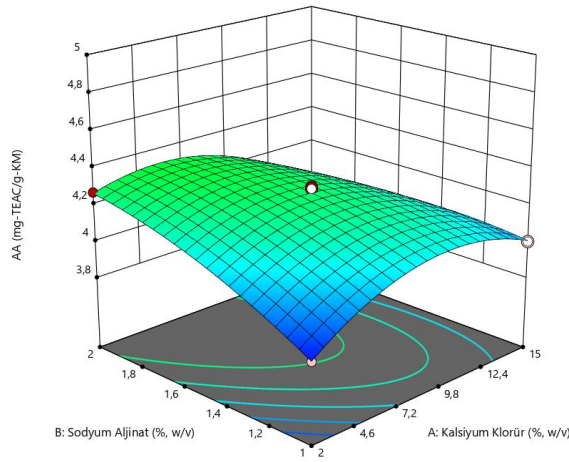
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Design-Expert yazılımı tarafından üretilen üç boyutlu (3D) grafikler, Şekil 4.10-4.12’de görüldüğü gibi proses parametrelerinin etkilerinin gözlemlenmesini sağlar.

Şekil 4.10, hibiskus (*Hibiscus sabdariffa*) ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

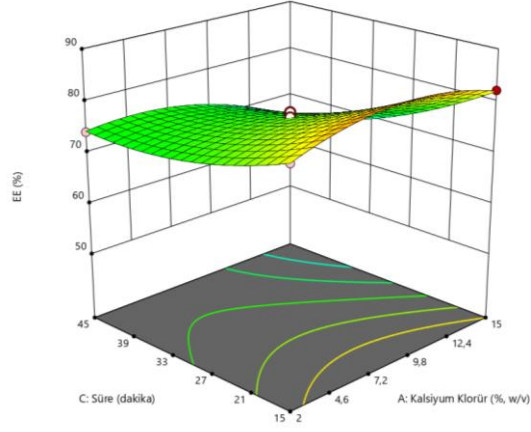
Şekil 4.10: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.

Jelleştirici ortamın (CaCl_2) konsantrasyonu arttığında, ilk başta mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği artmıştır. Ancak CaCl_2 konsantrasyonu %12.5'e ulaştığında, enkapsülasyon etkinliği Şekil 4.10a 'da görüldüğü gibi sabitlemiştir. Mikrokapsüllerin oluşturulması için çok değerlikli kalsiyum iyonları gereklidir. Bu nedenle, ilk artış başlangıçta beklenebilir. Aljinat kapsülleme işleminde, işlem sürecindeki optimum CaCl_2 konsantrasyonuna ulaşıldığında, aljinat zincirlerindeki aktif kalsiyum bağlama bölgeleri doyurulur [168]. Bu bağlama bölgelerinin doyurulması, artık kalsiyum iyonlarının aljinat zincirlerine yeni bağlanma yerleri bulamadığı anlamına gelir. Optimum konsantrasyondan sonraki CaCl_2 artışları, enkapsülasyon etkinliği üzerinde daha fazla etki göstermez ve etkinlik sabit kalır. Bu nedenle, optimum CaCl_2 konsantrasyonu aljinat kapsülleme işleminin en verimli

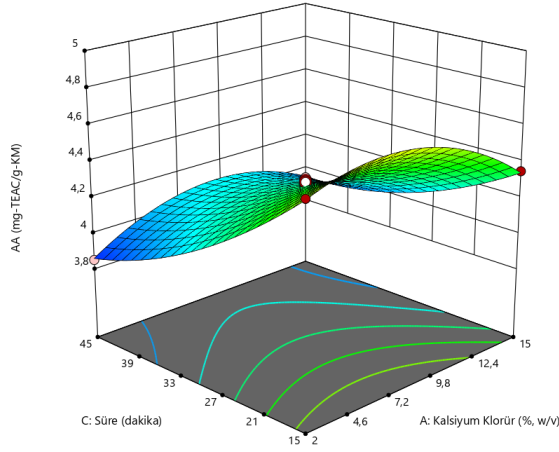
noktası olarak kabul edilir. Optimum değerin altında veya üstünde yapılan işlemler, enkapsülasyon etkinliğini olumsuz yönde etkileyebilir.

Sodyum aljinat konsantrasyonunun değişiminde de aynı eğilim gözlemlenmiştir. Duvar malzemesi konsantrasyonu %1.8'e ulaşana kadar enkapsülasyon etkinliği artmıştır. Benzer etki sodyum aljinat konsantrasyonunun değişiminde Guerra-Valle ve diğ. tarafından da gözlemlenmiştir [178]. Sükroz/gallik asit çözeltileri, iyonik jelleşme yöntemiyle aljinat tanecikleri içine hapsedilmiştir. Aljinat konsantrasyonu %2 (w/w) seviyesine ulaştığında, kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği sabit kalmıştır. Ancak, bu konsantrasyonun altındaki koşullar, içerideki aktif bileşiğin dışarı sızmasına neden olmuştur. Aynı şekilde, Toprakçı ve Şahin (2022) çalışmasında, zeytin yaprağı özütünün toplam fenolik madde içeriği üzerinde sodyum aljinatın benzer etkisinin gözlemlendiği belirtilmiştir [147]. Öte yandan, Şekil 4.10b, kapsüllerin antioksidan aktivitesi üzerinde jelleştirme ortamı (CaCl_2) ve duvar malzemesi (sodyum aljinat) konsantrasyonlarının etkilerini göstermektedir. Beklenildiği gibi, sodyum aljinat konsantrasyonunun artırılması mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesini desteklemiştir. Kapsülün çevresi kalınlaştıkça, biyolojik olarak aktif maddenin dış ortama geçişi engellenir. Dolayısıyla, kapsülün antioksidan aktivitesi artar [167].

Şekil 4.11, hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)

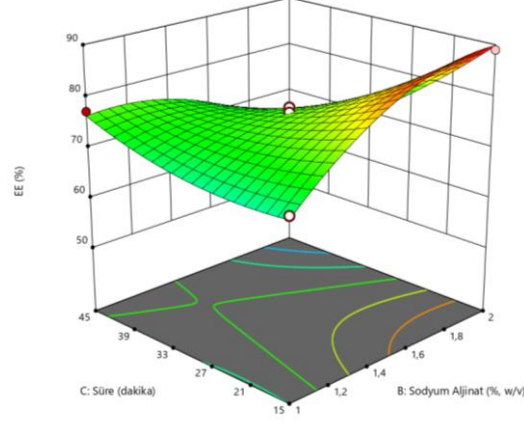


(b)

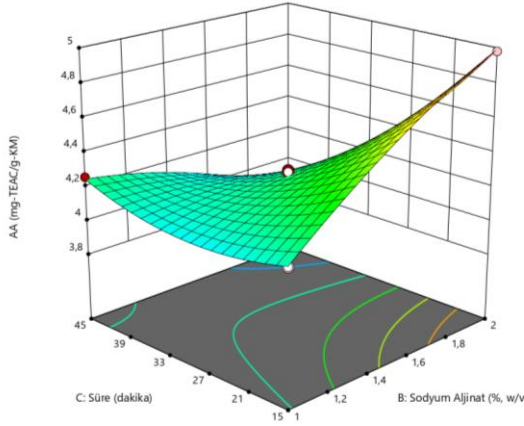
Şekil 4.11: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Enkapsülasyon etkinliği, Şekil 4.11a'da görüldüğü gibi CaCl_2 'ye maruz bırakılarak arttırılmıştır. Zeytin yaprağı ekstraktının ana fenolik bileşiği açısından EE, aljinat taneciklerinde zeytin yaprağı ekstraktının iyonik jelleşmesi sırasında sertleşme süresi ile düzenli olarak arttırılmıştır [147]. Bu durum muhtemelen Ca^{+2} 'nin sodyum aljinatla daha uzun süre temas halinde kalmasından kaynaklanmakta ve kapsül etrafındaki zarı güçlendirmektedir [173]. Öte yandan, aljinat konsantrasyonu %1.5 olduğunda kapsüllerin antioksidan aktivite değerleri sertleşme süresi ile zamanla azalmıştır (Şekil 4.11b). Bu durum, kapsüllerden biyoaktif ekstraktların salınması veya aljinat yapısına bağlı kalsiyum iyonlarının değişimiyle açıklanabilir [179]. Bu değişimler, kapsülün yapısal bütünlüğünü etkileyerek antioksidan aktivitesinin azalmasına yol açabilir.

Şekil 4.12, hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.12: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Kalsiyum klorür konsantrasyonu %8.5 olduğunda, sertleşme süresinin mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesini arttırdığı görülmektedir. Bu durum, değişkenler (sertleşme süresi ve jelleşme ortamı) arasındaki etkileşim etkisinin sonucudur. Jelleştirici ortamın konsantrasyonu daha yüksek olduğunda, sertleşme süresi antioksidan aktiviteyi olumlu yönde etkilemektedir. Kapsülü çevreleyen güçlü zar, içerideki biyoaktif maddelerin dışarıya doğru yayılmasını engelleyerek kapsülün yapısal bütünlüğünü destekler. Sonuç olarak, bu durum kapsülün antioksidan aktivitesinin artmasına neden olur.

4.1.2.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması

Design-Expert yazılımı, hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin üretimi için YYM'nin Box-Behnken tasarımını uygulamak üzere kullanılmıştır. Bu istatistiksel deneysel tasarım yaklaşımı, bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi kurarak deneysel çalışmayı tasarlayanın yanı sıra sürecin modellenmesini ve optimizasyonunu sağlar [180]. Kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği ve antioksidan aktivitesi, sistemin bağımlı değişkenleri iken, sodyum aljinat ve CaCl_2 konsantrasyonları ve sertleşme süresi bağımsız değişkenleridir. Tablo 4.7 ve Tablo 4.8, aljinat boncuklarda hibiskus ekstraktının iyonik jelleşmesinde EE ve AA değerlerine ilişkin ANOVA test sonuçlarını göstermektedir. Denklem (4.3) ve (4.4)'te, sırasıyla her bir faktörün (EE ve AA) verilen seviyeleri için yanıtı tahmin etmek amacıyla Box-Behnken tasarımı tarafından önerilen ikinci dereceden tasarım modelleri kodlanmış faktörler cinsinden verilmiştir:

$$\text{EE} = 76.92 - 2.00A + 0.9225 B - 5.83 C - 6.47AB - 2.42 AC - 8.79 BC - 3.77A^2 - 5.20 B^2 + 2.61 C^2 \quad (4.3)$$

$$\text{AA} = 4.27 - 0.0387 A + 0.0913 B - 0.2800 C - 0.1250 AB + 0.0825 AC - 0.3125 BC - 0.1915 A^2 - 0.0665 B^2 + 0.1060 C^2 \quad (4.4)$$

Tablo 4.6: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

EE	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1012.61	9	112.51	115.27	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	32.08	1	32.08	32.87	0.0007	
B- Sodyum Aljinat	6.81	1	6.81	6.97	0.0334	
C- Sertleşme Süresi	271.91	1	271.91	278.57	< 0.0001	
AB	167.70	1	167.70	171.81	< 0.0001	
AC	23.52	1	23.52	24.10	0.0017	
BC	308.70	1	308.70	316.27	< 0.0001	
A²	59.83	1	59.83	61.29	0.0001	
B²	114.05	1	114.05	116.84	< 0.0001	
C²	28.58	1	28.58	29.28	0.0010	
Kalıntı	6.83	7	0.9761			
Uyum Eksikliği	5.03	3	1.68	3.72	0.1184	önemsiz
Saf Hata	1.80	4	0.4506			
Kor Toplam	1019.44	16				
CV: % 1.34	$R^2=0.9933$		$R_a^2=0.9847$		$R_t^2=0.9183$	

Tablo 4.7: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

AA	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1.40	9	0.1557	244.58	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	0.0120	1	0.0120	18.87	0.0034	
B- Sodyum Aljinat	0.0666	1	0.0666	104.67	< 0.0001	
C- Sertleşme Süresi	0.6272	1	0.6272	985.50	< 0.0001	
AB	0.0625	1	0.0625	98.20	< 0.0001	
AC	0.0272	1	0.0272	42.78	0.0003	
BC	0.3906	1	0.3906	613.78	< 0.0001	
A²	0.1544	1	0.1544	242.62	< 0.0001	
B²	0.0186	1	0.0186	29.26	0.0010	
C²	0.0473	1	0.0473	74.34	< 0.0001	
Kalıntı	0.0045	7	0.0006			
Uyum Eksikliği	0.0006	3	0.0002	0.1976	0.8931	önemsiz
Saf Hata	0.0039	4	0.0010			
Kor Toplam	1.41	16				
CV: % 0.6012	$R^2=0.9968$		$R_a^2=0.9928$		$R_t^2=0.9891$	

Her iki yanıt değeri için üretilen ikinci dereceden polinom denklemleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$).

Kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.7’de görüldüğü üzere p değerlerine bağlı olarak proses değişkenlerinin etkisine bakıldığında tüm parametreler, etkileşimleri ve ikinci kuvvetleri anlamlı bulunmuştur. Sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi arasındaki etkileşim (BC) parametresi en anlamlı etkiyi göstermiştir, bunu sertleşme süresi (C), sodyum aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonu arasındaki etkileşim (AB) ve sodyum aljinat konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (B^2) parametreleri ($p<0.0001$) sırasıyla izlemiştir (Tablo 4.7). Kalan terimler de $p<0.05$ ’te anlamlı bulunmuştur.

Diğer yanıt değişkeni olan antioksidan aktivite dikkate alındığında da benzer gözlemler kaydedilmiştir (Tablo 4.8). Benzer şekilde, seçilen proses parametrelerinin tümü, mevcut iyonik jelleşme sistemi için önemli bulunmuştur. Sertleşme süresi (C) parametresi en anlamlı etkiyi göstermiştir, bunu anlamlı parametreler olarak sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi arasındaki etkileşim (BC), kalsiyum klorür konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (A^2), sodyum aljinat konsantrasyonu (B), kalsiyum klorür konsantrasyonu ve sodyum aljinat konsantrasyonu arasındaki etkileşim (AB) ve sertleşme süresinin ikinci dereceden kuvveti (C^2) parametreleri takip etmiştir ($p<0.0001$).

Ayrıca, %10'dan düşük CV değeri, önemsiz uyum eksikliği ($p>0.05$) değeri ve yüksek R^2 , R_a^2 ve R_t^2 değerleri gibi istatistiksel göstergelere bağlı olarak, bu iki modelin deneysel verileri temsil etmek için yeterli olduğu sonucuna varabiliriz.

4.1.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

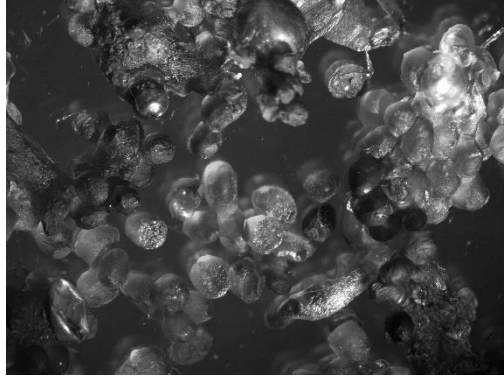
Hibiskus ekstraktının aljinat mikro boncuklarda mikrokapsülasyonu için maksimum EE verimini ve AA elde etmek amacıyla bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.9, maksimum EE verimi ve AA'ya sahip mevcut iyonik jelleşme sistemi için optimum koşulları vermektedir. Tablo 4.9'da belirtilen optimum koşulların doğrulama testleri, tatmin edici hata değerleri ($<2\%$) ile gerçekleştirilmiştir. Bu doğrulama sonuçları, tahmin edilen ve deneysel veriler arasındaki farkın 2% 'nin altında olmasıyla, YYM tarafından türetilen ikinci dereceden model denklemlerinin güvenilirliğini doğrulamaktadır.

Tablo 4.8: Hibiskus ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikrokapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç (%)	Deneysel Sonuç (%)	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (dakika)				
6.819	1.985	15.794	EE (%)	90.147	88.976	1.32
			AA (mg-TEAC/g-KM)	4.990	4.895	1.94

4.1.2.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi

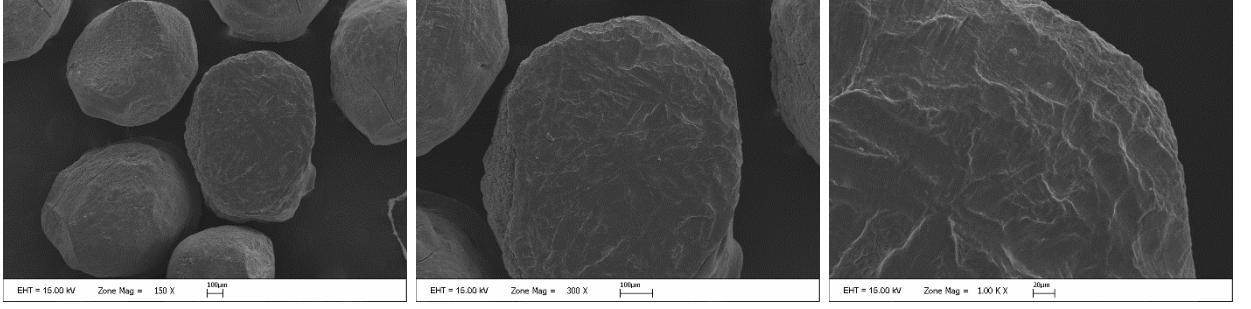
Şekil 4.13, aljinat boncuklar kullanılarak iyonik jelleşme yöntemi ile optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin görüntülerini sunmaktadır. Genel olarak elde edilen kapsüllerin minimum, ortalama ve maksimum çap değerleri sırasıyla 0.139 ± 0.018 mm, 0.143 ± 0.022 mm ve 0.155 ± 0.024 mm olarak ölçülmüştür. Mikrokapsül görüntüleri incelenmesi sonucunda küresellik değeri 0.0390 ± 0.0180 , şekil faktörü ise 1.3100 ± 0.0860 olarak ölçülmüştür. Elde edilen kapsüllerin küreselliğe ne kadar yakın olduğunu gösteren SF değeri, 1'e yaklaştıkça kapsüllerin daha mükemmel küresel şekle sahip olduğunu gösterir. SF değeri genellikle küresel ve eliptik parçacıkları tanımlamak için kullanılır. Kapsüllerde kuyruk oluşumu durumunda SF değeri sıfıra yaklaşır.



Şekil 4.13: Optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.

Küresellik değeri, bir kürenin maksimum ve minimum çaplarının oranını ifade eder ve mükemmel bir kürenin değerini sıfır olarak kabul eder. Küresellik değeri genellikle gözyaşı damlası ve armut şeklindeki parçacıklar için kullanılır, ancak küresellik değeri 0.05'in altında olan kapsüller de genellikle küresel olarak kabul edilebilir [162, 181]. Bu sonuçlar, elde edilen mikrokapsüllerin küreselliğinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir. Örneğin, D-limonun elektrostatik ekstrüzyon yöntemi ile aljinat boncuklarının elde edildiği bir çalışmada 0.003 ile 0.210 arasında küresellik değeri belirlenmiştir [182]. Ayrıca, yüksek viskoziteli polimer çözeltilerinin ve aljinat çözeltisinin akış hızının yumurta veya damla şeklinde deforme olmuş parçacıklar verdiği bildirilmiştir. Ayrıca aljinat küresinin şekli kurutma prosesiyle değişir [182].

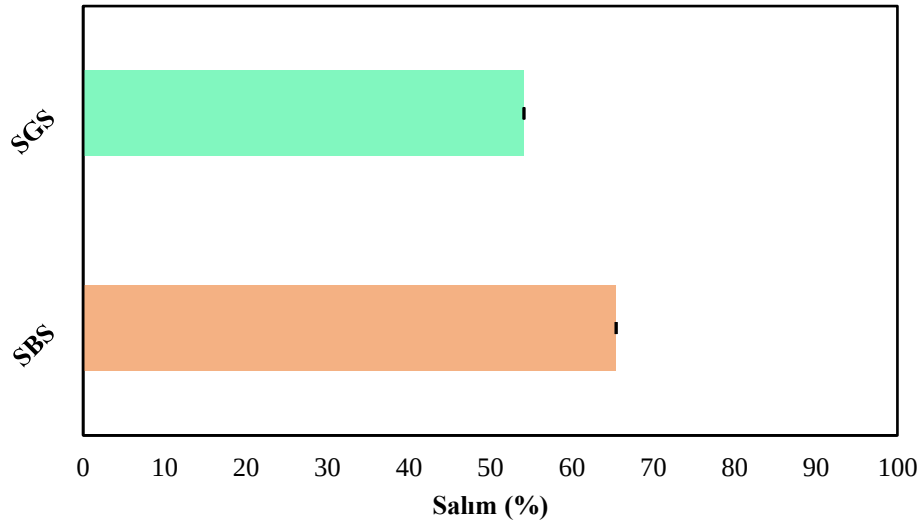
Şekil 4.14, hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin SEM görüntülerini göstermektedir. KD ve SF sonuçlarına benzer şekilde, SEM görüntüleri de mikrokapsüllerin küresel ve homojen olduğunu göstermektedir. Ayrıca, mikrokapsüller düzgün ve homojen bir yüzeye sahip olup pürüzsüz bir yapıya sahiptirler. Aljinat boncuk ile iyonik jelleşme ile elde edilen kapsüllerde herhangi bir büzülme veya çatlama gözlenmemiştir. Volic ve diğ., aljinat boncuk kapsülleme yöntemiyle elde edilen kapsüllerin yüzeyinin düzgün olduğunu bildirmişlerdir [183].



Şekil 4.14: Hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.

4.1.2.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Literatürdeki simüle edilmiş sindirim sistemlerinin çoğu, tipik olarak mide sindirimi aşamasını takiben bağırsak sindirimi aşamasını içerir. Mikrokapsüllerin biyoyararlanımını değerlendirmek amacıyla SGS ve SBS çözeltileri hazırlanmıştır. Optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen mikrokapsüllerden SGS ve SBS ortamlarına salınan biyoaktif bileşenler, salım tamamlanıncaya kadar belirli aralıklarla alınan numunelerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik içeriği ölçülerek değerlendirilmiştir. Şekil 4.15, optimum koşullarda Hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarına salım yüzdeleri göstermektedir.



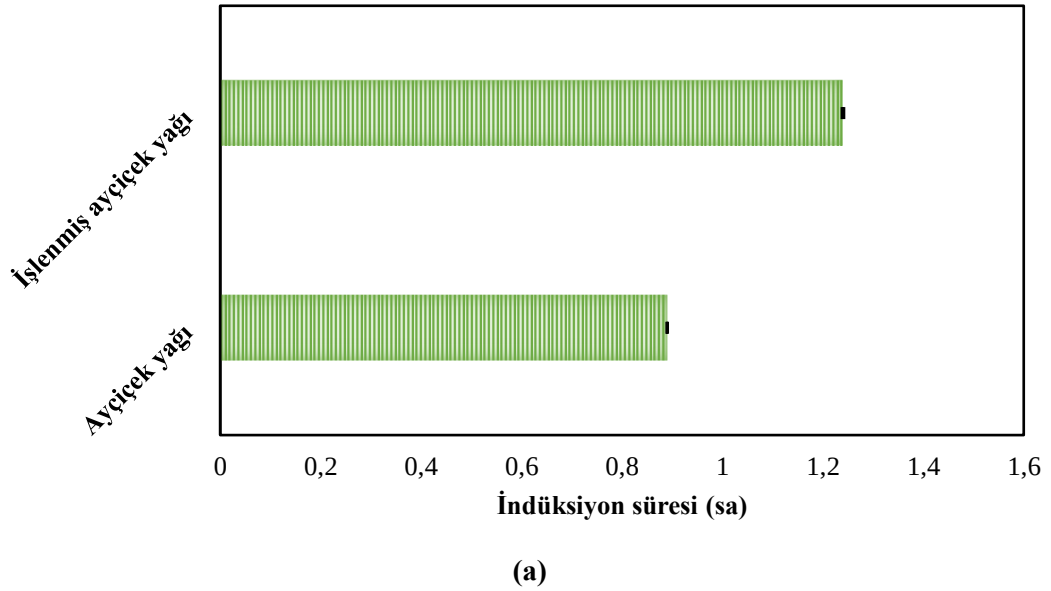
Şekil 4.15: Optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

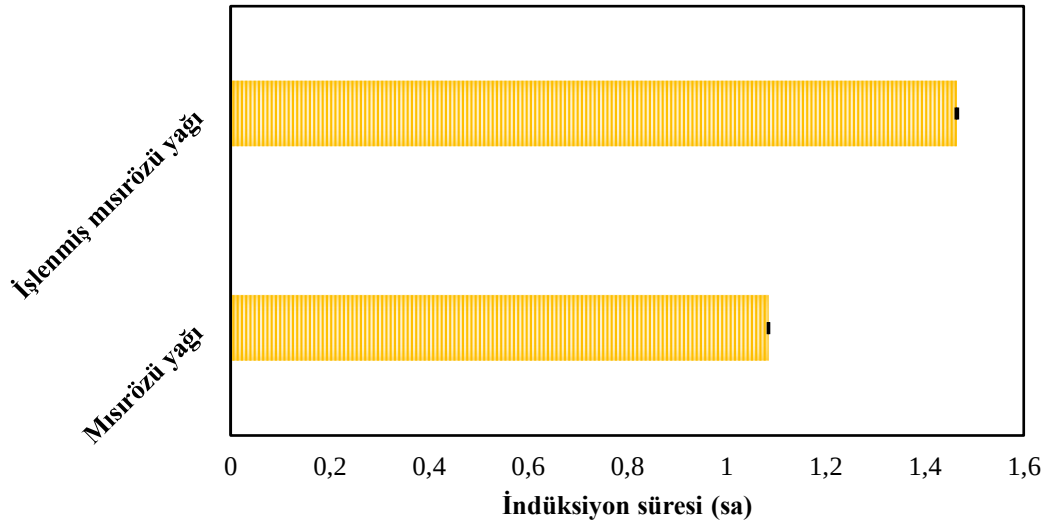
Şekil 4.15'ten görüldüğü üzere, mikrokapsüllerin SGS ve SBS çözeltilerine salım oranları incelendiğinde, SBS'de daha yüksek bir salım oranı belirlenmiştir. SGS'ye göre SBS'ye salım oranının yüksek olması tercih edilen bir durumdur. İdeal olan, biyoaktif bileşenlerin mümkün olduğunca mide yerine sindirim sisteminin daha alt kısımlarına, yüksek emilim oranlarına sahip

olan bağırsaklara salınımıdır. Bu durum, mide asidik koşullarından geçişi minimize ederken, bağırsaklarda biyoaktif bileşenlerin etkili bir şekilde salınımı sağlamak için önemlidir. Ayrıca, bu durum besin takviyeleri ve ilaçlar gibi biyoaktif maddelerin vücut tarafından emilimini kolaylaştırır ve bu sayede daha etkili bir şekilde işlev görmelerine olanak tanır [184].

4.1.2.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Gıda endüstrisinin temel hedeflerinden birisi, gıda bozulmalarını önlemek olduğu için gıdaların emniyeti açısından katkı maddesi olarak fenolik komponentlerin ilave edilmesi söz konusu olabilmektedir. Bitkisel yağların depolanma sürecinde duysal özelliklerinde meydana gelen olumsuzluklar, düşük polifenol seviyelerinden kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda, optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin, model gıda ürünleri olarak kullanılan ayçiçek yağı ve mısırözü yağının duysal özelliklerini korumak ve indüksiyon süresi, toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi çeşitli kalite parametrelerini iyileştirmek amacıyla doğal katkı maddesi olarak kullanılması incelenmiştir. Şekil 4.16, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkı) yağ numunelerinin indüksiyon sürelerini göstermektedir.





(b)

Şekil 4.16: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Bulgular, mikrokapsül katkısı sonucu ayçiçek yağının indüksiyon süresinde %39.33 oranında, mısırözü yağının indüksiyon süresinde ise %35.02 oranında artış olduğunu göstermektedir. Şekil 4.16'dan da görüldüğü üzere, her iki yağda da lipid oksidasyonuna karşı dirençte %35'in üzerinde bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış, mikrokapsüllerdeki çekirdek malzemenin yağları, ışık, nem ve oksijen gibi olumsuz çevre koşullarının neden olduğu bozunmalardan korunmasıyla ilişkilendirilebilir [185]. Bunun yanı sıra, indüksiyon süresindeki artış, kapsül içeriğindeki antioksidan maddelerin miktarı veya etkinliği gibi faktörlerin etkisiyle de ilişkilendirilebilir.

Tablo 4.10, saf yağ numunelerinin ve hibiskus ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.9: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.040 ± 0.001	0.0520 ± 0.002
	İşlenmiş	0.087 ± 0.002	0.0831 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.058 ± 0.001	0.0280 ± 0.002
	İşlenmiş	0.060 ± 0.003	0.0379 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.10'dan elde edilen bulgulara göre, mikrokapsül ilavesinin sonucunda, hem ayçiçek yağı hem de mısırözü yağının fonksiyonel özelliklerinde belirgin artışlar gözlemlenmiştir.

Mikrokapsül ilavesi sonucunda, ayçiçek yağının TFM içeriği saf ayçiçek yağına göre 1.18 kat oranında artarken, antioksidan aktivitesi %59.81 oranında artmıştır. Benzer şekilde, mikrokapsül ilavesi sonucunda, mısırözü yağının TFM içeriği saf mısırözü yağına göre %3.45 oranında artarken, antioksidan aktivitesi ise %35.34 oranında artmıştır.

Elde edilen bulgular, mikrokapsül ilavesi sonucunda, mısırözü yağının indüksiyon süresindeki artış (%35.02) ile antioksidan aktivitesindeki artış (%35.34) arasında benzerlik olduğunu göstermektedir. Bu durum, antioksidan aktivitedeki artışın yağın oksidasyonunu azaltarak indüksiyon süresini arttırmasıyla ilişkilendirilebilir.

4.1.3. Aljinat Boncuklarında Kuşburnu Çekirdeği Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu

4.1.3.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

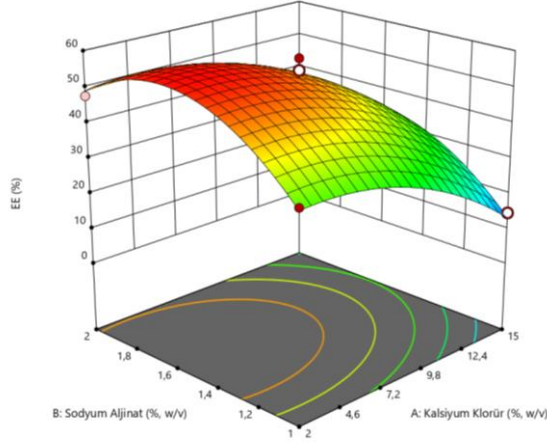
Tablo 4.11, Box-Behnken-YYM'ye dayalı olarak verilen iyonik jelleşme proses koşulları altında mikro boncukların enkapsülasyon etkinliğini ve antioksidan aktivitesini göstermektedir. Tablo 4.11'de görüldüğü gibi, Design-Expert yazılımı tarafından üretilmiş 5 merkez noktalı (%8.5 kalsiyum klorür, %1.5 sodyum aljinat ve 30 dakika sertleşme süresi) 17 deneysel çalışma gerçekleştirilmiştir. Üretilen boncukların EE'si %7.35 ile %57.95 arasında değişirken, üretilen boncukların antioksidan aktivitesi, gram kurutulmuş mikrokapsül başına 3.47 ile 4.23 mg trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) arasında değişmiştir.

Tablo 4.10: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.

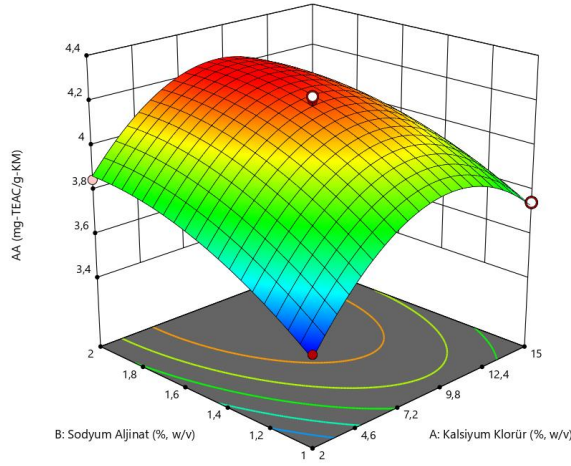
Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)	EE (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2	1.5	45	41.40	3.64 ± 0.001
2	8.5	15	30	57.95	4.09 ± 0.003
3	8.5	2	15	37.47	4.13 ± 0.001
4	8.5	1.5	30	54.64	4.16 ± 0.001
5	8.5	1.5	30	49.65	4.20 ± 0.002
6	2	1.5	15	52.56	3.72 ± 0.001
7	8.5	2	45	36.23	4.23 ± 0.002
8	2	2	30	47.62	3.85 ± 0.006
9	15	2	30	26.71	3.96 ± 0.005
10	8.5	1	15	35.26	4.06 ± 0.002
11	15	1.5	45	15.42	3.71 ± 0.004
12	8.5	1.5	30	50.52	4.22 ± 0.002
13	15	1	30	14.66	3.75 ± 0.001
14	8.5	1.5	30	49.69	4.22 ± 0.005
15	8.5	1	45	7.35	3.58 ± 0.001
16	2	1	30	37.29	3.47 ± 0.006
17	15	1.5	15	32.57	4.04 ± 0.003

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Design-Expert yazılımı tarafından oluşturulan 3D yüzey grafikleri de proses parametreleri etkileşimlerinin görselleştirilmesine olanak sağlamıştır. Şekil 4.17-4.19, kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat taneciklerinin enkapsülasyon etkinliği (a) ve antioksidan aktivitesi (b) üzerindeki proses parametrelerinin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.17, kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivite üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkilerini göstermektedir.



(a)



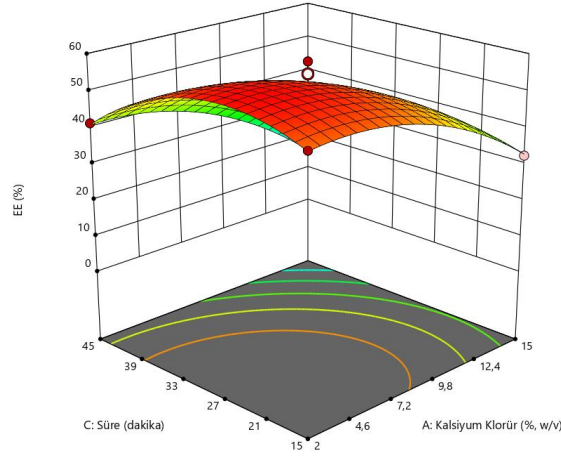
(b)

Şekil 4.17: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.

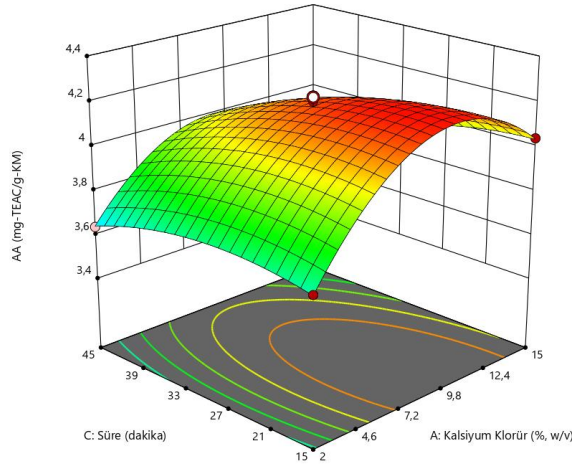
Şekil 4.17a’da görüldüğü gibi, sodyum aljinat konsantrasyonu %1.66 olana kadar EE sürekli olarak artmıştır. Bu optimal noktadan sonra, sodyum aljinat konsantrasyonundaki bir artış, enkapsülasyon etkinliğini azaltmıştır. Bu etki, daha yüksek sodyum aljinat konsantrasyonuna bağlı olarak viskozitedeki artışa bağlanabilir. Literatürde küresel mikro boncuk üretebilmek için en az %1.5 sodyum aljinat konsantrasyonunun gerekli olduğu bildirilmektedir. Öte yandan, 20 g/L’nin üzerindeki sodyum aljinat konsantrasyonları, çoğu durumda yüksek viskozite, pompalama zorluğu ve Newton olmayan davranış gibi çeşitli sorunlardan dolayı prosesi olumsuz etkilemektedir [186]. Kapsüllerin antioksidan aktivitesinde de benzer etki gözlenmiştir. Kapsülün zarının kalınlaşması biyolojik olarak aktif malzemenin çevreye

sızmasını önleyeceğinden, duvar malzemesi konsantrasyonu, yol boyunca kapsüllerin antioksidan aktivitesini arttırmıştır (Şekil 4.17b) [167].

Şekil 4.18, kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)

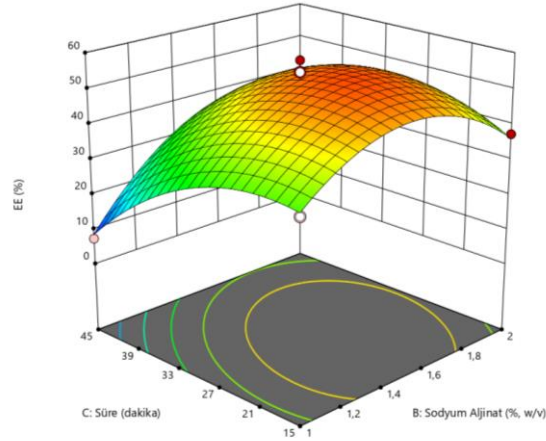


(b)

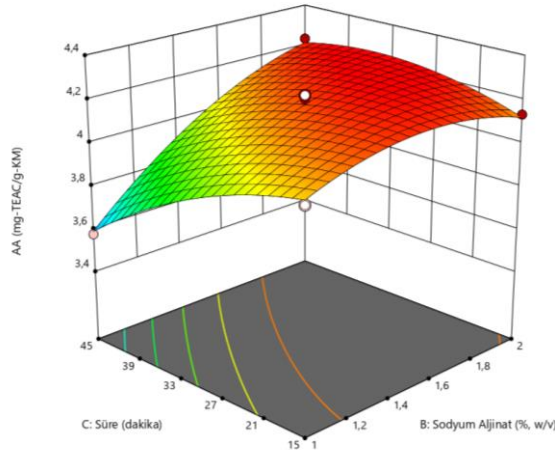
Şekil 4.18: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.18a ve 4.18b’de görüldüğü gibi, kapsüllerin EE ve antioksidan aktivitesi belirli bir noktaya kadar sürekli olarak artmış ve daha sonra kalsiyum klorür konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Bu bulgu, iyonik jelasyon sisteminde jel yapısı oluşturmak için Ca^{++} iyonları gibi

iki değerlikli katyonların gerekli olmasıyla açıklanabilir. Başlangıçta CaCl_2 miktarının artırılması, iyonik jelleşmeyi desteklemiştir ve bu nedenle kapsüllerin EE'si ve antioksidan aktivitesi sürekli olarak artmıştır. Ancak, belirli bir noktadan sonra optimum CaCl_2 konsantrasyonuna ulaşıldığında, polimer zincirlerindeki aktif bağlanma bölgeleri doymun hale gelir ve artan CaCl_2 ilavesinin artık belirgin bir etkisi olmaz [168]. Bu durumda, ilave CaCl_2 'nin enkapsülasyon etkinliği ve antioksidan aktivite üzerinde azalan bir etkiye sahip olduğu gözlemlenir. Şekil 4.19, kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.19: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.19a ve 4.19b’de görüldüğü üzere, sertleşme süresinin artmasıyla birlikte, başlangıçta EE ve antioksidan aktivite artmıştır. Bu durumun temel nedeni, kapsüllerin uzun sertleşme süresi boyunca daha fazla zamanını jelleşme banyosunda (CaCl_2 çözeltisi) geçirmesidir. Bu süreçte, aljinat polimer zincirleri CaCl_2 çözeltisindeki kalsiyum iyonları ile daha güçlü ve stabil iyonik bağlar oluşturur. Bu durum, mikrokapsüllerin daha sıkı bir yapıya sahip olmasını ve içerdiği aktif bileşenin daha iyi korunmasını sağlar.

Optimal sertleşme süresine ulaşıldıktan sonra, Şekil 4.19a ve 4.19b’de görüldüğü gibi EE ve antioksidan aktivite azalmıştır. Bu etki, çekirdek materyalin jelleşme banyosu çözeltisine (CaCl_2) geçmesine ve CaCl_2 çözeltisinde aşırı maruz kalma ile ilişkili olarak kapsülün etkinliğinin azalmasına bağlanabilir [171]. Bu nedenle, optimum sertleşme süresine ulaşmak, kapsülün istenen özelliklerini elde etmek ve içerdiği aktif bileşenin korunmasını sağlamak için önemlidir.

4.1.3.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması

Box-Behnken-YYM çalışması kullanılarak varyans analizi uygulanmıştır. ANOVA test sonuçlarına bağlı olarak, bağımlı ve bağımsız değişkenleri ilişkilendiren iki ampirik ilişki (EE ve AA) elde edilmiştir. Tablo 4.12 ve 4.13, aljinat boncuklarda kuşburnu çekirdeği ekstraktının iyonik jelleşmesinde EE ve AA değerlerine ilişkin ANOVA test sonuçlarını göstermektedir. Her iki yanıt (EE ve AA) için kodlanmış faktörler açısından Design-Expert yazılımı tarafından türetilen ikinci dereceden polinom denklemleri sırasıyla Denklem (4.5) ve Denklem (4.6)’da verilmiştir:

$$\text{EE} = 52.49 - 11.19 A + 6.68 B - 7.18 C + 0.4305 AB - 1.50 AC + 6.67 BC - 7.26 A^2 - 13.66 B^2 - 9.75 C^2 \quad (4.5)$$

$$\text{AA} = 4.18 + 0.0971 A + 0.1652 B - 0.0997 C - 0.0427 AB - 0.0620 AC + 0.1457 BC - 0.3232 A^2 - 0.0989 B^2 - 0.0781 C^2 \quad (4.6)$$

Tablo 4.11: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

EE	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	3517.57	9	390.84	42.43	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	1001.59	1	1001.59	108.72	< 0.0001	
B- Sodyum Aljinat	357.20	1	357.20	38.77	0.0004	
C- Sertleşme Süresi	412.67	1	412.67	44.80	0.0003	
AB	0.7413	1	0.7413	0.0805	0.7849	
AC	9.00	1	9.00	0.9767	0.3559	
BC	177.90	1	177.90	19.31	0.0032	
A²	221.65	1	221.65	24.06	0.0017	
B²	786.08	1	786.08	85.33	< 0.0001	
C²	399.87	1	399.87	43.41	0.0003	
Kalıntı	64.49	7	9.21			
Uyum Eksikliği	10.30	3	3.43	0.2534	0.8558	önemsiz
Saf Hata	54.19	4	13.55			
Kor Toplam	3582.05	16				
CV: % 7.98	$R^2=0.9820$		$R^2_a=0.9589$		$R^2_t=0.9304$	

Tablo 4.12: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

AA	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1.02	9	0.1135	52.60	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	0.0755	1	0.0755	34.99	0.0006	
B- Sodyum Aljinat	0.2185	1	0.2185	101.27	< 0.0001	
C- Sertleşme Süresi	0.0795	1	0.0795	36.87	0.0005	
AB	0.0073	1	0.0073	3.38	0.1087	
AC	0.0154	1	0.0154	7.14	0.0319	
BC	0.0850	1	0.0850	39.39	0.0004	
A²	0.4398	1	0.4398	203.88	< 0.0001	
B²	0.0412	1	0.0412	19.08	0.0033	
C²	0.0257	1	0.0257	11.89	0.0107	
Kalıntı	0.0151	7	0.0022			
Uyum Eksikliği	0.0024	3	0.0008	0.2547	0.8548	önemsiz
Saf Hata	0.0127	4	0.0032			
Kor Toplam	1.04	16				
CV: % 1.18	$R^2=0.9854$		$R^2_a=0.9667$		$R^2_t=0.9435$	

Tablo 4.12 ve Tablo 4.13'deki verilere göre, her iki yanıt değişkeni için önerilen modellerin elde edilen ikinci dereceden polinom denklemleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$, $F=42.43$ ve $F=52.60$).

Kapsüllerin toplam fenolik madde içeriği açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.12'de görüldüğü üzere, p değerlerine bağlı olarak proses değişkenlerinin etkileri göz önüne alındığında, seçilen bağımsız parametrelerin tümü iyonik jelleşme sistemi için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). EE için sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi arasındaki etkileşim (BC) parametresi dışında ($p < 0.05$) ikili

etkileşimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Ayrıca seçilen tüm parametrelerin ikinci kuvvetleri (A^2 , B^2 , C^2) EE için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). EE yanıt değişkeni üzerindeki en önemli parametreler sırasıyla kalsiyum klorür konsantrasyonu (A) ve sodyum aljinat konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (B^2) olarak belirlenmiştir. ($p < 0.0001$). Bunu sırasıyla C, C^2 , B, A^2 , BC parametreleri izlemiştir ($p < 0.05$).

Kapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.13’de görüldüğü üzere, p değerlerine bağlı olarak proses değişkenlerinin etkisine bakıldığında, seçilen bağımsız parametrelerin tümü ve ikinci kuvvetleri iyonik jelleşme sistemi için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Kalsiyum klorür konsantrasyonu ile sodyum aljinat konsantrasyonu arasındaki etkileşim (AB) parametresi dışında ikili etkileşimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). AA yanıt değişkeni üzerindeki en önemli parametreler sırasıyla kalsiyum klorür konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (A^2) ve sodyum aljinat konsantrasyonu (B) parametreleri olarak belirlenmiştir. ($p < 0.0001$). Bunu sırasıyla BC, C, A, B^2 , C^2 , AC parametreleri izlemiştir ($p < 0.05$).

Önerilen modellerin uygunluğu, uyum eksikliği testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hesaplanan p değerleri her iki yanıt değişkeni için 0.05’ten büyük, yani önemsiz olarak bulunmuştur. Bu sonuç, önerilen modellerin verilere yeterince uygun olduğunu göstermektedir. Başka bir ifadeyle, modellerin verilerle iyi bir uyum gösterdiği ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ANOVA sonuçları, önerilen modeller için R^2 değerlerinin 1’e yakın olduğunu göstermiştir. %10’dan düşük olan varyasyon katsayısı (CV) ve yüksek determinasyon katsayısı ($R^2 > 0.98$, $R_a^2 > 0.95$ ve $R_c^2 > 0.93$) değerleri, deneysel ve tahmin edilen değerler arasında tatmin edici bir ilişki olduğunu göstermektedir.

4.1.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

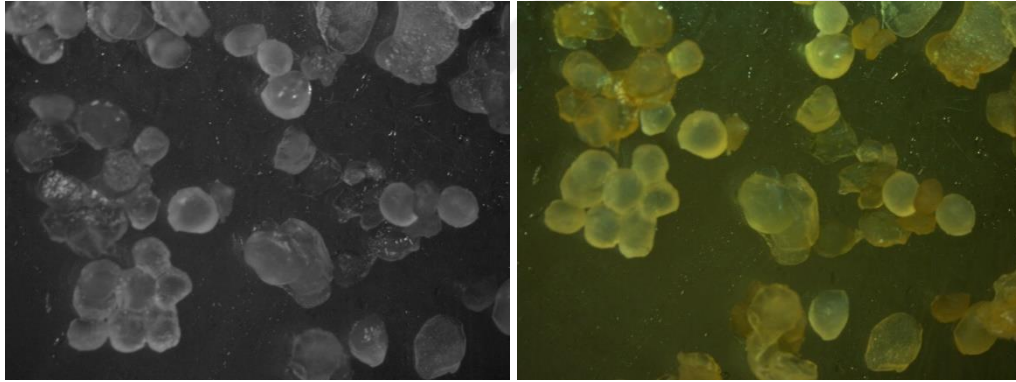
Aljinat mikro boncuklarda kuşburnu çekirdeği ekstraktının mikrokapsülasyonunda EE verimi ve antioksidan aktiviteyi maksimize etmek için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Tablo 4.14, maksimum EE verimi ve AA’ya sahip mevcut iyonik jelleşme sistemi için optimum koşulları vermektedir. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır ve ANOVA sonuçları ortalama standart sapma olarak rapor edilmiştir. Optimum proses koşullarının doğrulanması da gerçekleştirilmiştir. Validasyon çalışmasına göre, deneysel ve hesaplanan sonuçlar arasındaki farkın %2’den düşük bulunması, Box-Behnken-YYM ile türetilen ikinci dereceden model denklemlerinin güvenilirliğini göstermektedir.

Tablo 4.13: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç (%)	Deneysel Sonuç (%)	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (dakika)				
7.982	1.664	25.992	EE (%)	54.653	53.665	1.81
			AA (mg-TEAC/g-KM)	4.221	4.156	1.54

4.1.3.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi

Şekil 4.20, aljinat boncuklar kullanılarak iyonik jelleşme yöntemi ile optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin görüntülerini göstermektedir. Genel olarak elde edilen kapsüllerin minimum, ortalama ve maksimum çap değerleri sırasıyla 0.156 ± 0.003 mm, 0.160 ± 0.012 mm ve 0.166 ± 0.004 mm olarak ölçülmüştür. Mikrokapsül görüntüleri incelenmesi sonucunda küresellik değeri 0.0280 ± 0.0090 , şekil faktörü ise 1.1930 ± 0.0070 olarak ölçülmüştür. SF değeri, kapsüllerin küresellik derecesini gösterir ve 1'e yaklaştıkça mükemmel küresel yapıya sahip olduklarını ifade ederken, kuyruk oluşumu durumunda bu değer sıfıra yaklaşır. Bu durum, kapsüllerin ne kadar küresel olduğunu değerlendirmek için önemli bir ölçüttür. Yüksek SF değerleri, kapsüllerin daha küresel ve istenilen yapıya daha yakın olduğunu gösterir.

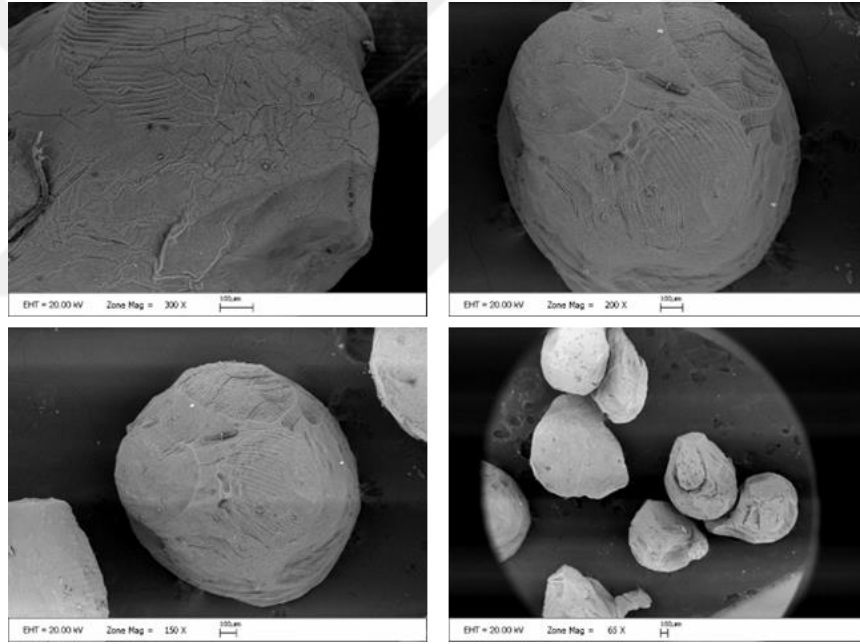


Şekil 4.20: Optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.

Ayrıca, küresellik değeri, kapsüllerin küreselliğini belirleyen diğer bir ölçüttür ve 0'a yakın olması, daha küresel yapıya işaret eder. KD, bir kürenin maksimum ve minimum çapları arasındaki oranı gösterir. Bu değer ne kadar küçük olursa, kapsüllerin o kadar küresel olduğu kabul edilir. Mikrokapsüllerin şekilleri üzerine yapılan araştırmalar, küresel olmayan boncukların küresel boncuklara göre daha düşük mukavemet gösterdiğini ortaya koymuştur [162]. Özellikle gözyaşı şeklindeki (kuyruklu) ve küresel olmayan boncuklarda kırılma ve çatlamalar meydana gelerek kapsüllerin açıldığı belirtilmiştir. Bu nedenle, küresel boncuklar, eczacılık, gıda ve yem ürünleri için estetik kaliteyi arttırmada önemli bir rol oynamaktadır.

[187]. Sonuç olarak, mikrokapsüllerin küresel yapıya sahip olmaları, mekanik ve kimyasal stabiliteyi arttırmak için önemlidir. Küreselliği yüksek olan kapsüller, daha dayanıklı ve istenilen özelliklere sahip ürünlerin elde edilmesine katkı sağlar. Bu nedenle, kapsüllerin şekilleri, ürün kalitesi ve performansı açısından dikkate alınması gereken önemli bir özelliktir.

Şekil 4.21, kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin SEM görüntülerini göstermektedir. Kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat tanecikleri, homojen bir boyut dağılımına sahip küresel bir morfoloji sergilemiştir. Aljinatın fenolik bileşikler kapsüllemesi, kapsülün pürüzsüz ve homojen bir yapıya sahip olmasına katkıda bulunabilir. Aljinat taneciklerinin yüzeyleri, daha yakından incelendiğinde hafif çatlak yapılar gözlenmiştir. Bu yapılar, muhtemelen kurutma sırasında gözeneklerin duvarlarının çökmesiyle ilişkilidir [58].

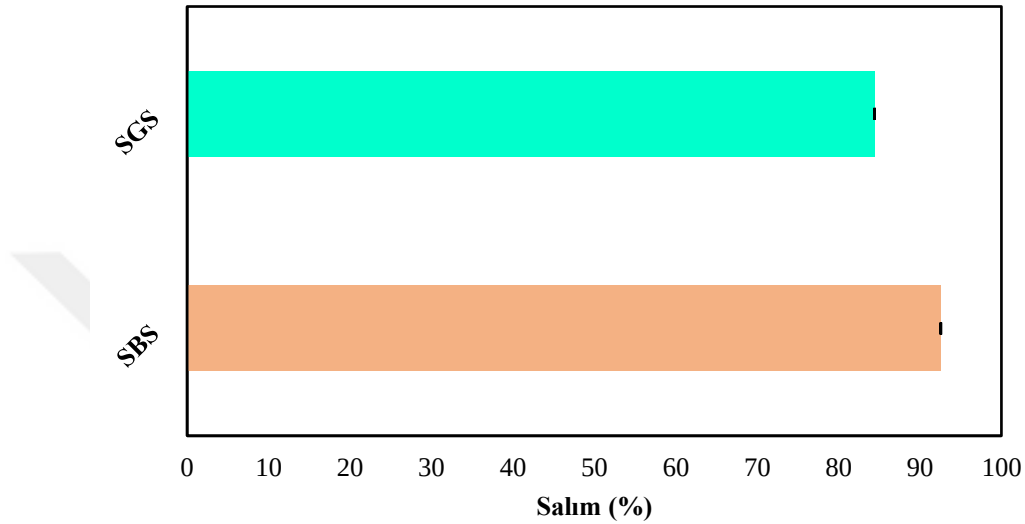


Şekil 4.21: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.

4.1.3.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Fenolik bileşikler gastrointestinal sindirim koşullarına duyarlıdır ve bu durum, biyoyararlıklarının azalmasına yol açar. Biyoaktif bileşiklerin stabilitesini artırmak ve onların düşük biyoyararlılığına çözüm üretmek için kapsülleme teknolojisi giderek daha fazla kullanılmaktadır [188]. Bu bağlamda, optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aljinat mikrokapsüller sindirim sistemi simülasyonu için SGS (pH=1.5) ve SBS (pH=7.4) çözeltilerinde incelenerek, mikrokapsüllerin sindirim sürecindeki davranışı ve bileşiklerin Emilimi belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin salım

performansı, SGS ve SBS çözeltilerinden belirli aralıklarla alınan numunelerin TFM içeriklerinin optimum koşullardaki mikrokapsüllerin fenolik içeriğine oranı ile belirlenmiştir. TFM içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülmüştür. Şekil 4.22, optimum koşullarda kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS çözeltilerine salım oranlarını göstermektedir.



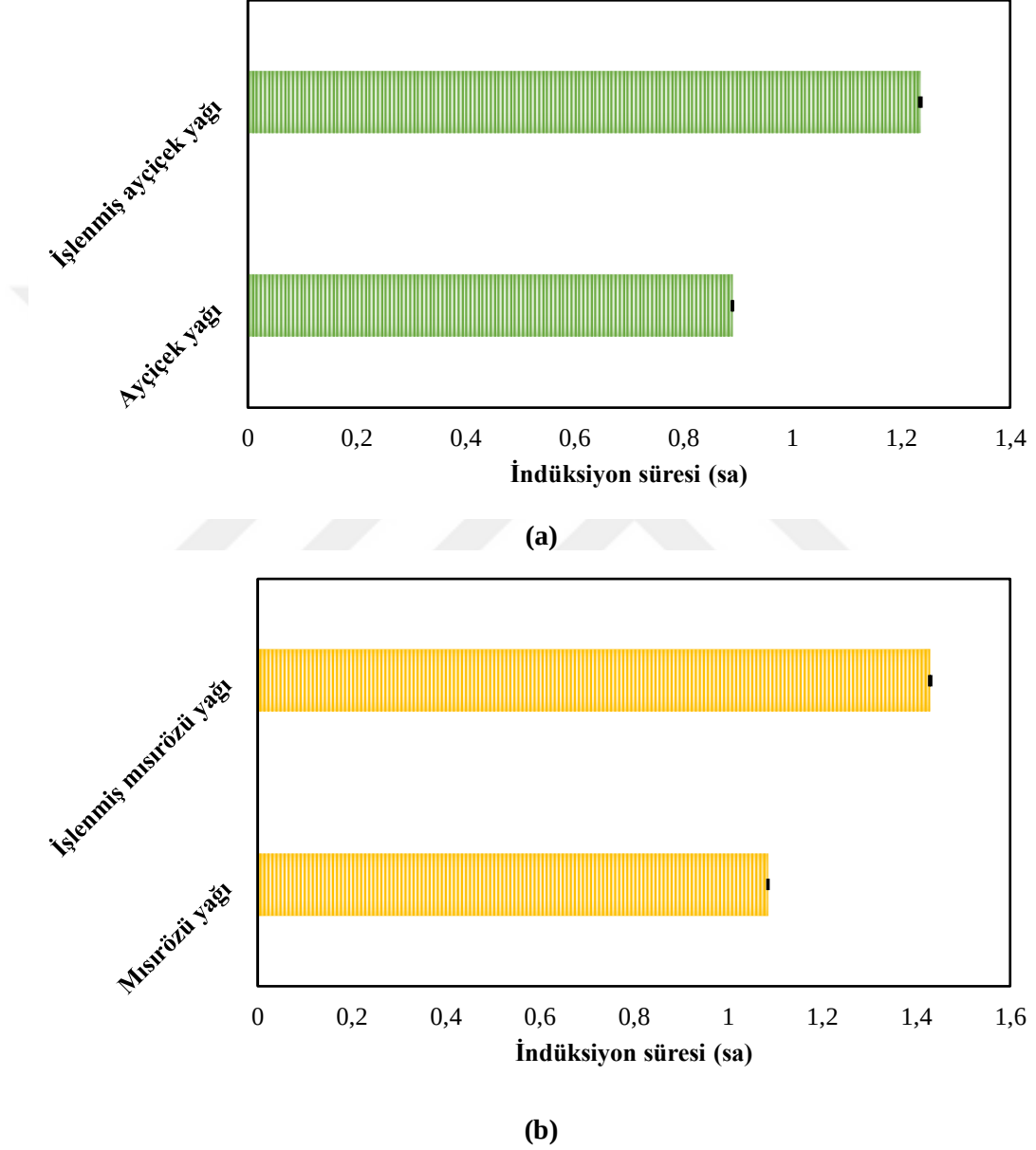
Şekil 4.22: Optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarına salım oranları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.22'den görüldüğü üzere, mikrokapsüllerden fenolik maddelerin SGS (pH=1.5) çözeltisine %84.43 oranında, SBS (pH=7.4) çözeltisine ise %92.56 oranında salındığı gözlenmiştir. Bağırsak ortamında salım oranının daha fazla olması, fenolik maddelerin biyoyararlılığı açısından tercih edilen bir durumdur. Ayrıca, SGS çözeltisine olan yüksek salım oranı, asidik ortamda kapsül matrisindeki asitlere duyarlı bileşenlerin çözünürlüğünün artması ile ilişkili olabilir.

4.1.3.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Bu çalışmada model gıda ürünleri olarak kullanılan ayçiçek yağı ve mısırözü yağı, yapılarında yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri içermeleri sebebiyle bozunmayı, kötü tatları ve renk değişikliğini tetikleyen oksidatif bozunmaya duyarlıdır. Bu nedenle, optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller doğal katkı maddesi olarak ayçiçek yağı ve mısırözü yağı gibi gıda matrislerine entegre edilerek bu gıda ürünlerinin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi ve bozunma tepkimelerinin geciktirilmesi amaçlanmıştır. Mikrokapsül ilavesi sonucu yağların fonksiyonel özelliklerindeki değişimler,

TFM içeriği ve antioksidan aktivitesine bağlı olarak değerlendirilmiştir. Saf ve mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin TFM içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle, antioksidan aktivitesi ise ABTS yöntemiyle belirlenmiştir. Şekil 4.23, saf ve mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin indüksiyon sürelerini göstermektedir.



Şekil 4.23: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

İndüksiyon süresi, bir yağ örneğinin artan sıcaklık ve hava akışı koşullarına dayanma yeteneğini belirler, bu da oksidatif bozunmayı hızlandırır. İndüksiyon süresi, yenilebilir yağların genel raf ömrünün bir göstergesidir [156].

Elde edilen bulgular, mikrokapsül katkısının hem ayçiçek yağı hem de mısırözü yağı üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu göstermektedir. Şekil 4.23'ten görüldüğü üzere, mikrokapsül ilavesi sonucunda ayçiçek yağının indüksiyon süresinde %38.76 oranında artış görülürken, mısırözü yağının indüksiyon süresinde ise %31.80 oranında artış gözlenmiştir. Bu bulgular, mikrokapsül katkısının her iki yağ türünde de lipid oksidasyonuna karşı direnci arttırdığını göstermektedir. Sonuç olarak, mikrokapsül katkısının yağların raf ömrünü arttırma potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılabilir.

Tablo 4.15, saf yağ numunelerinin ve kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.14: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.040 ± 0.001	0.0520 ± 0.002
	İşlenmiş	0.068 ± 0.003	0.0864 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.058 ± 0.001	0.0280 ± 0.002
	İşlenmiş	0.162 ± 0.002	0.0405 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Mikrokapsül katkısı oksidatif stabiliteyi arttırmanın yanı sıra her iki yağın TFM içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özelliklerini de arttırmıştır. İşlenmiş ayçiçek yağının biyoaktif özellikleri, saf ayçiçek yağına göre TFM açısından %70 oranında, antioksidan aktive açısından ise %66.15 oranında artmıştır. Benzer şekilde, işlenmiş mısırözü yağının biyoaktif özellikleri, saf mısırözü yağına göre TFM açısından yaklaşık 1.79 kat artarken, antioksidan aktivite açısından ise %44.64 oranında artmıştır.

Düşük polifenol içeriğine sahip bitkisel yağların TFM içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi kalite parametrelerindeki iyileştirmeler, mikrokapsüllerin yapısında bulunan polifenol bileşikler ve bunların antioksidan etkisi ile ilişkilendirilebilir. Artan biyoaktif özelliklerin, yağlarda oksidasyonun gecikmesine ve dolayısıyla indüksiyon süresinin artmasına katkıda bulunabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, ayçiçek yağının TFM içeriğindeki artış ile antioksidan aktivitesindeki artış arasındaki yakınlık, yağdaki fenolik madde miktarının antioksidan kapasitesine olan katkısını destekler niteliktedir [156].

4.1.4. Aljinat Boncuklarında Erik Kabuğu Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu

4.1.4.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Tablo 4.16, Box-Behnken-YYM tarafından belirlenen proses koşulları altında, mikrokapsüllerin, EE ve antioksidan aktivite değerlerini bağımsız değişkenlerin farklı kombinasyonlarına göre 17 farklı yanıtta sunmaktadır. EE koşullara bağlı olarak %30.14 ile %65.34 arasında değişmiştir. Üretilen mikrokapsüllerin DPPH radikal süpürme aktivitesi, gram kurutulmuş mikrokapsül başına 5.40 ile 5.96 trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) arasında değişmiştir. Tzatsi ve Goula (2021), yaban mersini özü içeren aljinat boncuklarının EE'sini %8.94 ve %93.87 olarak bildirmiştir [189]. Benzer şekilde, bildirilen EE değerleri de CaCl_2 konsantrasyonuyla artmıştır.

Tablo 4.15: Erik kabuğu ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.

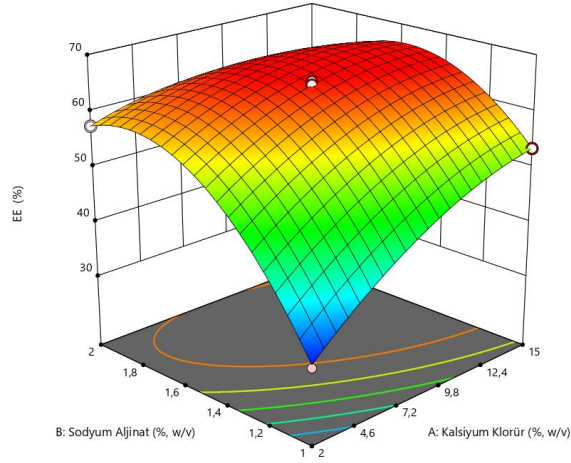
Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)	EE (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2	1.5	45	47.87	5.56 ± 0.003
2	8.5	15	30	65.34	5.72 ± 0.001
3	8.5	2	15	58.82	5.66 ± 0.001
4	8.5	1.5	30	64.67	5.78 ± 0.002
5	8.5	1.5	30	64.76	5.74 ± 0.002
6	2	1.5	15	56.09	5.50 ± 0.001
7	8.5	2	45	56.78	5.51 ± 0.001
8	2	2	30	57.45	5.42 ± 0.001
9	15	2	30	58.22	5.58 ± 0.004
10	8.5	1	15	43.77	5.66 ± 0.001
11	15	1.5	45	62.87	5.79 ± 0.002
12	8.5	1.5	30	63.80	5.74 ± 0.001
13	15	1	30	53.48	5.90 ± 0.001
14	8.5	1.5	30	64.76	5.68 ± 0.005
15	8.5	1	45	42.02	5.70 ± 0.001
16	2	1	30	30.14	5.40 ± 0.003
17	15	1.5	15	62.67	5.96 ± 0.004

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

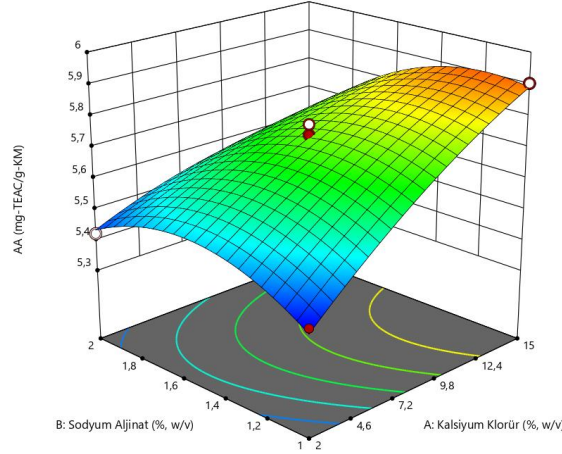
Kaltsa ve diğ., moringa ekstraktının aljinat taneciklerinde kapsülasyonu sırasında CaCl_2 'ye aşırı maruz kalmanın (20. dakikadan sonra), bitki matrisinden fenoliklerin kaybına bağlı olarak etkinliği de azalttığını bildirmişlerdir. Bu durumu aktif maddelerin yükleme etkinliğindeki azalma ile açıklamışlardır [179]. CaCl_2 'ye aşırı maruz kalma, katı aljinata bağlı kalsiyum

iyonunun kaymasına veya aktif maddelerin gereksiz şekilde ayrılmasına neden olabilir. Liu ve diğ., *Gardenia* sarı pigmenti içeren aljinat boncuklarının EE'sini %55.01 ile 72.54 arasında bildirmiştir [190]. Benzer şekilde, EE, matris üzerindeki serbest hacim (aljinat matrisindeki aljinat tarafından işgal edilen alan) nedeniyle aljinat konsantrasyonuyla artmıştır. Bu durum, boncukların sıkı bir şekilde çapraz bağlı ağ yapısını iyileştirerek aktif maddelerin kaçışını önlemiştir. Najafi-Soulari ve diğ., aljinat taneciklerinde melisa özütünün iyonik jelleşmesi için EE'yi yaklaşık %40 olarak hesaplamışlardır [169].

Design-Expert yazılımı, birden fazla proses parametresinin etkileşimlerini görsel olarak anlamamızı sağlayan 3D yüzey grafikleri oluşturur. Deneylerin karmaşıklığını azaltmak için genellikle bir parametre sabitlenirken, diğerleri değiştirilerek yüzey grafikleri oluşturulur. Bu yaklaşım, grafiklerin daha basit ve anlaşılır olmasını sağlar, böylece parametreler arasındaki etkileşimler daha kolay gözlemlenebilir. Şekil 4.24-4.26, erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat taneciklerinin enkapsülasyon etkinliği (a) ve antioksidan aktivitesi (b) üzerindeki proses parametrelerinin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.24, erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivite üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkilerini göstermektedir.



(a)



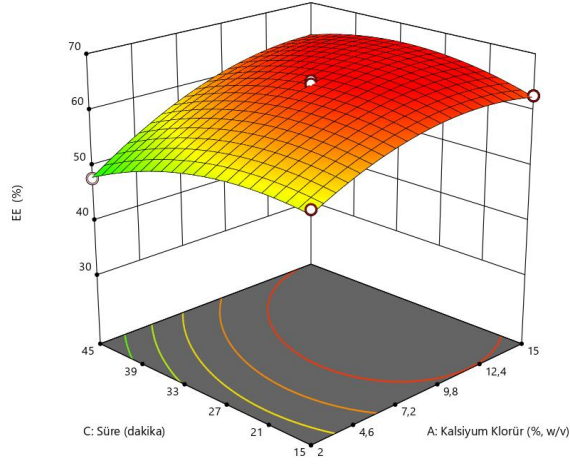
(b)

Şekil 4.24: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.

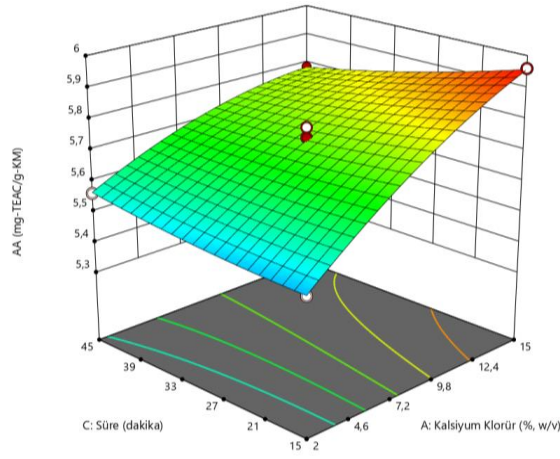
Şekil 4.24a’da görüldüğü gibi, EE sodyum aljinat konsantrasyonu ile yaklaşık %1.6’ya kadar keskin bir şekilde artmıştır. Benzer bir eğilim, Guerra-Valle ve diğ. tarafından yapılan çalışmada da gözlemlenmiştir [178]. Sodyum aljinat konsantrasyonu yaklaşık %2.5’in üzerine çıktığında, EE’de azalma gözlemlenmiştir. Nispeten güçlü bağlar oluşturmak için aktif çekirdeğin kaçmasını önleyen sodyum aljinat konsantrasyonunun en az %2 olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan, daha yüksek sodyum aljinat konsantrasyonları da viskozitenin artması nedeniyle proses için elverişsizdir. Sodyum aljinat konsantrasyonundaki artışla viskozite yükseldiği için bu beklenebilir bir durumdur.

Şekil 4.24b’de görüldüğü üzere, kapsüllerin antioksidan aktivitesi için de benzer gözlemler kaydedilmiştir. İlk olarak, kapsülün etrafındaki kalınlaşma nedeniyle, sodyum aljinat konsantrasyonu ile artan kapsüllerin antioksidan aktivitesi, aktif maddenin sızmasını önler [167]. Ancak, sodyum aljinat konsantrasyonunun yaklaşık %1.6’sından sonraki düşüş, yukarıda bahsedilen benzer dezavantajlar nedeniyle beklenebilir.

Şekil 4.25, erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)

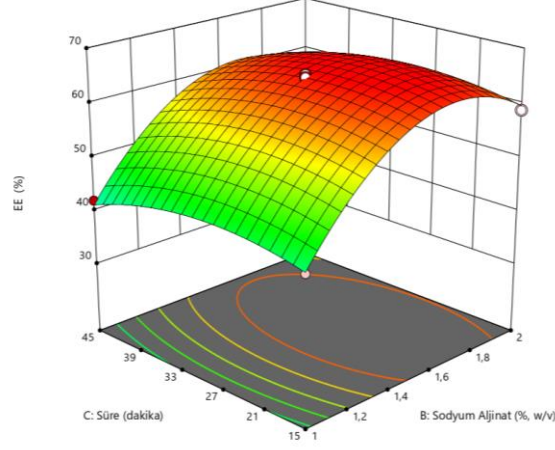


(b)

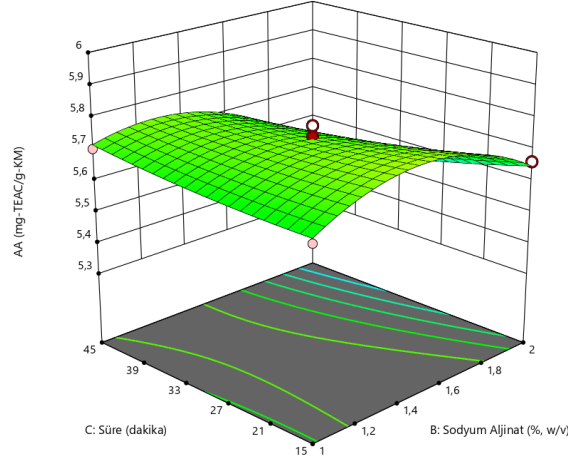
Şekil 4.25: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.25a ve 4.25b’de görüldüğü gibi, kalsiyum klorür, kapsüllerin oluşumu için gereken Ca^{2+} iyonlarının varlığı nedeniyle her iki yanıt değişkeni üzerinde de olumlu bir etkiye sahiptir. Başlangıçta, CaCl_2 konsantrasyonunun arttırılması, daha fazla Ca^{2+} iyonunun sisteme girmesine ve polimer zincirleri arasında daha fazla iyonik bağlantının oluşmasına olanak tanır. Bu durumda, iyonik jelleşme süreci desteklenir ve jel yapısı güçlenir. Yeterli miktarda Ca^{2+} iyonu olduğunda, polimer zincirleri arasında maksimum iyonik bağlar oluşur ve jel yapısı en stabil hale gelir. Bu noktadan sonra, CaCl_2 konsantrasyonundaki artış jelin özelliklerini değiştirmeyebilir veya daha fazla jelleşmeyi desteklemeyebilir. Benzer bir CaCl_2 gözlemi, aljinat taneciklerinde α - tokoferolün mikrokapsülasyonu [78] ve aljinat taneciklerinde keten tohumu yağının mikrokapsülasyonu [170] sırasında da kaydedilmiştir.

Şekil 4.26, erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.26: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.26a'dan görüldüğü üzere, sertleşme süresindeki artış, EE yanıt değişkeni üzerinde belli bir değere kadar pozitif etki gösterirken belli bir değerden sonra negatif etki göstermiştir. Başlangıçta sertleşme süresindeki artış ile EE'nin artması, daha güçlü çapraz bağların oluşması ve daha homojen bir dağılımın sağlanması gibi faktörlere bağlı olabilir. Bu durum, mikrokapsüllerin içerisindeki aktif bileşenlerin daha iyi kapsüllenmesini sağlayarak enkapsülasyon etkinliğini pozitif etkilemiş olabilir. Ancak belli bir değeri aşan sertleşme

süreleri, kapsül matrisinin aşırı sertleşmesine neden olabilir. Bu durumda, kapsül matrisi esnekliğini kaybedebilir ve mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği düşebilir. Bu durum, polar fenolik antioksidanların çözeltide aşırı maruz kalma nedeniyle polar jelleşme ortamına difüzyonuyla ilişkilendirilebilir [171]. Başka bir açıklama, çevreye aşırı maruz kalma nedeniyle, katı aljinata bağlı kalsiyum iyonları yer değiştirebilir [179]. Ayrıca bu durum, aktif maddelerin kapsülün çekirdeğinden jelleşme ortamına gereksiz şekilde geçmesine neden olabilir. Şekil 4.26b'den görüldüğü üzere, sertleşme süresinin artması, mikrokapsüllerin içerisindeki aktif bileşenlerin daha iyi kapsüllenmesine, çapraz bağların güçlenmesine ve kapsül matrisinin daha stabil bir yapı kazanmasına neden olarak antioksidan aktivitesini olumlu yönde etkilemiştir.

4.1.4.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması

YYM'nin Box-Behnken tasarımı, erik kabuğu içeren aljinat mikrokapsüllerinin üretimi için kullanılmıştır. Bu deneysel yaklaşım, EE ve AA gibi bağımlı değişkenler ile sodyum aljinat ve CaCl_2 konsantrasyonları ile sertleşme süresi gibi bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamıştır. Tablo 4.17 ve Tablo 4.18, aljinat boncuklarda erik kabuğu ekstraktının iyonik jelleşmesinde EE ve AA değerlerine ilişkin ANOVA test sonuçlarını göstermektedir. Denklem (4.7) ve Denklem (4.8)'de, sırasıyla her iki yanıt (EE_{TFM} ve AA) için Box-Behnken tasarımı tarafından önerilen ikinci dereceden tasarım modelleri kodlanmış faktörler cinsinden verilmiştir:

$$\text{EE} = 64.67 + 5.71 A + 7.73 B - 1.48 C - 5.64 AB + 2.10 AC - 0.0729 BC - 3.91 A^2 - 10.93 B^2 - 3.38 C^2 \quad (4.7)$$

$$\text{AA} = 5.73 + 0.1682 A - 0.0610 B - 0.0276 C - 0.0851 AB - 0.0584 AC - 0.0492 BC - 0.0429 A^2 - 0.1127 B^2 + 0.0123 C^2 \quad (4.8)$$

Tablo 4.16: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

EE	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1565.12	9	173.90	249.20	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	260.84	1	260.84	373.78	< 0.0001	
B-Sodyum Aljinat	478.50	1	478.50	685.68	< 0.0001	
C-Sertleşme Süresi	17.44	1	17.44	25.00	0.0016	
AB	127.41	1	127.41	182.57	< 0.0001	
AC	17.69	1	17.69	25.35	0.0015	
BC	0.0212	1	0.0212	0.0304	0.8665	
A²	64.27	1	64.27	92.10	< 0.0001	
B²	503.38	1	503.38	721.35	< 0.0001	
C²	48.21	1	48.21	69.09	< 0.0001	
Kalıntı	4.88	7	0.6978			
Uyum Eksikliği	3.66	3	1.22	3.98	0.1077	önemsiz
Saf Hata	1.23	4	0.3065			
Kor Toplam	1570.00	16	173.90			
CV: % 1.49	$R^2=0.9969$		$R^2_a=0.9929$		$R^2_t=0.9615$	

Tablo 4.17: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

AA	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	0.3780	9	0.0420	46.87	< 0.0001	önemli
A-Kalsiyum Klorür	0.2263	1	0.2263	252.51	< 0.0001	
B-Sodyum Aljinat	0.0297	1	0.0297	33.18	0.0007	
C- Sertleşme Süresi	0.0061	1	0.0061	6.80	0.0350	
AB	0.0290	1	0.0290	32.34	0.0007	
AC	0.0136	1	0.0136	15.22	0.0059	
BC	0.0097	1	0.0097	10.82	0.0133	
A²	0.0077	1	0.0077	8.65	0.0217	
B²	0.0535	1	0.0535	59.68	0.0001	
C²	0.0006	1	0.0006	0.7095	0.4275	
Kalıntı	0.0063	7	0.0009			
Uyum Eksikliği	0.0017	3	0.0006	0.4775	0.7150	önemsiz
Saf Hata	0.0046	4	0.0012			
Kor Toplam	0.3842	16	0.0420			
CV: % 0.5283	$R^2=0.9837$		$R^2_a=0.9627$		$R^2_t=0.9123$	

Tablo 4.17 ve Tablo 4.18’de görüldüğü gibi, varyans analizine bağlı olarak Denklem (4.7) ve Denklem (4.8)’de verilen modeller istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$, $F=249.20$ ve $F=46.87$).

Kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği değerlerine yönelik yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, Tablo 4.17’de belirtildiği üzere, p değerlerine dayanarak proses değişkenlerinin etkileri incelendiğinde, seçilen tüm proses parametreleri (A, B ve C) erik kabuğu ekstraktının aljinat taneciklerinde iyonik jelleşme yöntemiyle kapsüllenmesi için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). EE’ye göre değerlendirildiğinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun

ikinci dereceden kuvvetinin (B^2) en önemli parametre olduğu görülmektedir ($p < 0.0001$, $F = 721.35$). Bunu sırasıyla $p < 0.0001$ 'de B, A, AB, A^2 , C^2 parametreleri takip etmektedir. $p < 0.05$ 'de ise sırasıyla AC ve C parametreleri takip etmektedir. Sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi arasındaki etkileşim (BC) parametresi dışında diğer terimler (etkileşimler ve ikinci kuvvetler) EE üzerinde anlamlı bir etkiye sahiptir (Tablo 4.17).

Benzer şekilde, Liu ve diğ., aljinat mikrokapsüllerinde *Gardenia* pigmentinin kapsüllenmesinde en etkili parametrenin aljinat konsantrasyonu olduğunu bildirmiştir [190]. Aljinat konsantrasyonu, melisa özütünün aljinat taneciklerindeki kapsülleme sistemi için en önemli parametre olarak bulunmuştur [169]. Gholamian ve diğ., kimyon tohumu esansiyel yağının aljinat taneciklerinde mikroenkapsülasyonu sırasında $CaCl_2$ konsantrasyonu ve sertleşme süresine kıyasla sodyum aljinat konsantrasyonunun en önemli ($p < 0.0001$) değişken olduğunu bildirmiştir [173].

Tablo 4.18'den görüldüğü üzere, ikinci yanıt değişkeni olan kapsüllerin antioksidan aktivitesi için de benzer ANOVA bulguları gözlemlenmiştir. Proses parametrelerinin etkilerini incelediğimizde, seçilen tüm bağımsız parametrelerinin (A, B ve C) iyonik jelleşme sistemi için istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Kalsiyum klorür konsantrasyonu (A), AA yanıt değişkeni üzerinde en yüksek F değeri ($F = 252.51$) ve en düşük p değeri ($p < 0.0001$) ile en anlamlı parametre olarak belirlenmiştir. Sodyum aljinat konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (B^2) en anlamlı ikinci parametre olarak belirlenmiştir ($p = 0.0001$). Buna ek olarak, B, AB, AC, BC, A^2 , C parametreleri de sırasıyla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Sonuç olarak, sertleşme süresinin ikinci dereceden kuvveti (C^2) parametresi ($p > 0.05$) haricinde, seçilen tüm parametreler ve terimlerin AA yanıt değişkeni üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Ayrıca, yanıt değişkenleri için önerilen modellerin verilerle uyumlu olması istendiği için, anlamlı olmayan uyum eksikliği değeri de makuldür ($p > 0.05$). ANOVA'nın diğer göstergelerine göre CV, R^2 , ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 , oluşturulan modellerin tatmin edici olduğunu göstermektedir. Design-Expert yazılımı, ayarlanmış R^2 'yi ve tahmini R^2 'yi maksimize eden modele odaklanmaya göre ikinci dereceden modellerin önerildiğini gösterir. Tablo 4.17 ve Tablo 4.18'den görüldüğü üzere, her iki yanıt değişkeni için de (EE ve AA) ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 değerleri arasındaki farkın 0.2'den az olması, modellerin makul bir uyum içinde olduğunu göstermektedir.

4.1.4.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

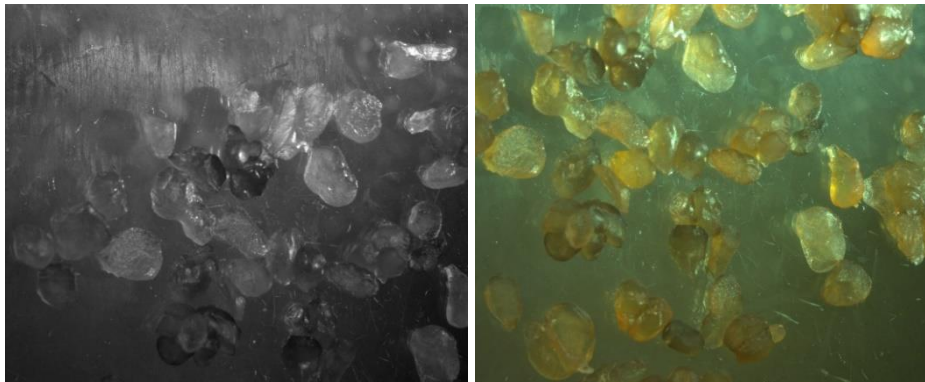
Erik kabuğu ekstraktının aljinat mikro boncuklarda mikroenkapsülasyonu için iyonik jelleşme sisteminin optimum koşulları Tablo 4.19’da verilmiştir. Önerilen koşulları doğrulamak için bu koşullar altında deneysel çalışma yapılmıştır. Bu, validasyon veya doğrulama çalışması olarak bilinir. Doğrulama testleri, Tablo 4.19’da görüldüğü gibi tatmin edici hata değerleri (<%3) ile verilmiştir. Bu değerler, YYM’ye dayalı olarak geliştirilen ikinci dereceden model denklemlerinin geçerliliğini doğrulayarak, yapılan deneysel çalışmanın önerilen koşullardaki uygunluğunu kanıtlamaktadır.

Tablo 4.18: Erik kabuğu ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikroenkapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç (%)	Deneysel Sonuç (%)	Hata Oranı (%)
A (% w/v)	B (% w/v)	C (dakika)				
15.00	1.439	17.962	EE (%)	63.364	62.208	1.82
			AA (mg-TEAC/g-KM)	5.947	5.822	2.10

4.1.4.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi

Optimum koşullarda elde edilen kapsüllerin şekil özellikleri de incelenmiştir. Şekil 4.27, aljinat boncuklar kullanılarak iyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin genel görünümünü sunmaktadır. Genel olarak elde edilen kapsüllerin minimum, ortalama ve maksimum çap değerleri sırasıyla 0.120 ± 0.060 mm, 0.160 ± 0.020 mm ve 0.180 ± 0.040 mm olarak ölçülmüştür. Kapsüllerin küresellik değeri ve şekil faktörü sırasıyla 0.046 ± 0.0001 ve 0.895 ± 0.0230 olarak hesaplanmıştır.



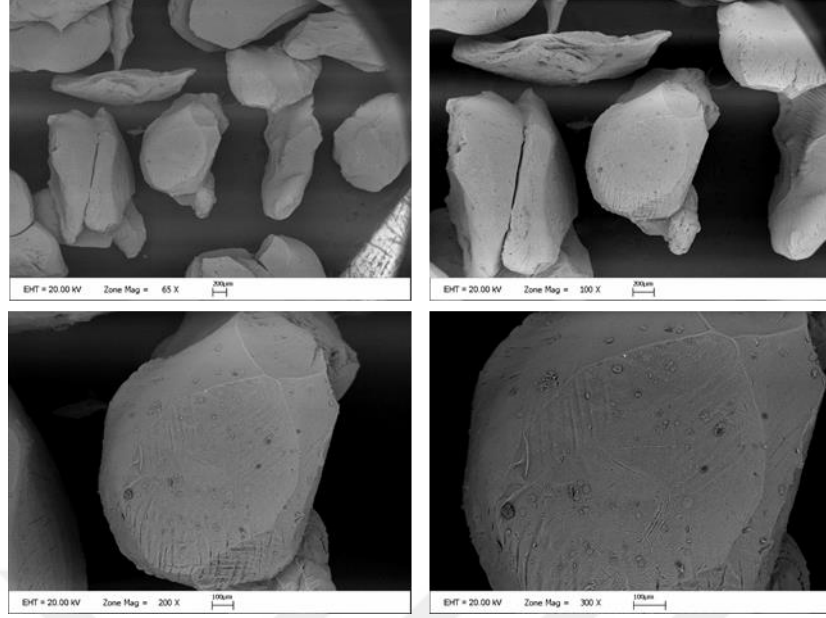
Şekil 4.27: Optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.

Küresellik değeri genellikle mikrokapsüllerin boncuk şeklinin kantitatif olarak belirlenmesi için kullanılır ve bu değer 0.05’ten küçük olması, kabul edilebilir bir küresellik seviyesini temsil etmektedir [191, 192]. Öte yandan, şekil faktörü değerleri elde edilen kapsüllerin küreselliğe

ne kadar yakın olduğunu gösterir ve 1'e yaklaştıkça kapsüllerin daha mükemmel küresel olduğunu gösterir [193]. KD ve SF değerlerinin mükemmel küreselliğin tam sınırında olduğu görülmektedir. Bu durumun, kapsüller elde edildikten sonra gerçekleştirilen kurutma işleminden veya kurutma sırasında şeklin korunamaması nedeniyle şeker içeriğinin veya sodyum aljinat konsantrasyonunun yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aljinat taneciklerinde kuyruk oluşumu durumunda SF sıfıra yaklaşır. Küresellik değeri genellikle küresel ve eliptik parçacıkları tanımlamak için kullanılır [162]. Aljinat küreselleştirme tekniğinde, kapsüllerin küreselliği mekanik ve kimyasal stabilite üzerinde oldukça etkilidir. Küresel olmayan boncukların mukavemetinin, küresel boncuklardan daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Gözyaşı şeklindeki (kuyruklu) ve küresel olmayan boncukların kırılıp çatlayarak kapsülün açıldığı, küresel boncukların da farmasötik, gıda ve yem ürünlerinde estetik kaliteyi artırdığı belirtilmektedir [187].

Arriola ve diğ., aljinat globülleri ile kapsüllenmiş *Stevia* ekstraktının fenolik içerikleri ile antioksidan kapasiteleri arasında bir korelasyondan bahsetmiştir [58]. Çalışmalar, Ca-aljinat boncuklarının fenolik içerik, aroma bileşeni ve antioksidan kapasite açısından kapsülleme etkinliğinin şekil, boyut, boyut değişimi ve yüzey morfolojisi gibi bazı özelliklere bağlı olduğunu bildirmiştir [162].

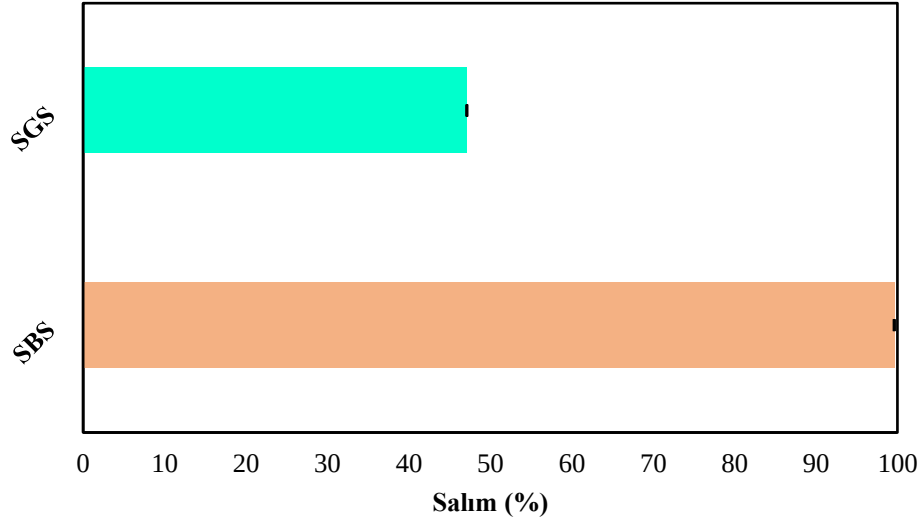
Şekil 4.28, erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda elde edilmiş SEM görüntülerini göstermektedir. Genel olarak aljinat boncuk yöntemiyle elde edilen kapsüller kurutma koşullarına bağlı olarak farklı kapsül morfolojisi özellikleri göstermektedir. Aljinat kapsülleri dondurularak kurutulduğunda oldukça süngerimsi bir doku ve boşluklu bir yapı elde edilirken [194], sıcak havayla kurutmada ise daha pürüzsüz bir yüzey oluşturulabilmektedir [174, 195]. Kapsüllerin boyutu, şekli ve morfolojisi de değerlendirilmiştir. Şekil 4.28, kapsüllerin şeklinin oldukça küresel ve pürüzsüz olduğunu, ancak kurutma işlemi sırasında yüzeyin daha fazla çatladığını ve ayrıca bir miktar çökmenin gözlemlendiğini göstermektedir.



Şekil 4.28: Erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.

4.1.4.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Biyolojik olarak aktif maddelerin mikrokapsüllerden salınımının nicel tahmini, bu maddelerin gıda endüstrisinde uygulanabilirliği ve verimliliğinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Besin Dağıtım Sistemi için istenilen mikrokapsül, çekirdek materyalini güçlü asidik ortamdan korumalıdır, bu da kaplama materyalinin aside dayanıklı olması gerektiği anlamına gelir. Mikrokapsül, ince bağırsakta çekirdek materyali hızla serbest bırakmalı ve emilim hızı azaldıkça çekirdek materyalinin etkili konsantrasyonunu korumak için salım hızını sürdürmelidir [78]. Mikrokapsüllerden toplam fenolik bileşiklerin salımı, 24 saatlik bir süre boyunca simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında değerlendirilmiştir. Bu *in vitro* salım deneyleri, erik kabuğu ekstraktı yüklü mikrokapsül numunelerinin SGS (pH=1.5) ve SBS (pH=7.4) çözeltilerinde 37 ± 0.5 °C sıcaklıkta ve 150 rpm’ de çalkalamalı su banyosunda (Nüve, ST-402) çalkalanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Çalkalamalı su banyosunda karışmakta olan bu çözeltilerden belirli zaman aralıklarında 1.5 mL alınarak, yerine aynı miktarda ilgili çözeltiler (SGS ve SBS çözeltileri) ilave edilmiştir. Sıvı fazda salınan TFM içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemiyle spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Mikrokapsüllerin SGS ve SBS çözeltilerine salım performansı, belirli zaman aralıklarında alınan numunelerin TFM içeriğinin, erik kabuğu ekstraktı yüklü mikrokapsül numunelerinin TFM içeriğine oranlanmasıyla belirlenmiştir. Şekil 4.29, optimum koşullarda erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS çözeltilerine salım oranlarını göstermektedir.



Şekil 4.29: Optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarına salım oranları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.29'dan görüldüğü üzere, simüle edilmiş bağırsak sıvısı (pH=7.4) içinde salınan TFM miktarı (%99.60), simüle edilmiş gastrik sıvı (pH=1.5) içinde salınan TFM miktarından (%47.13) belirgin bir şekilde daha fazladır.

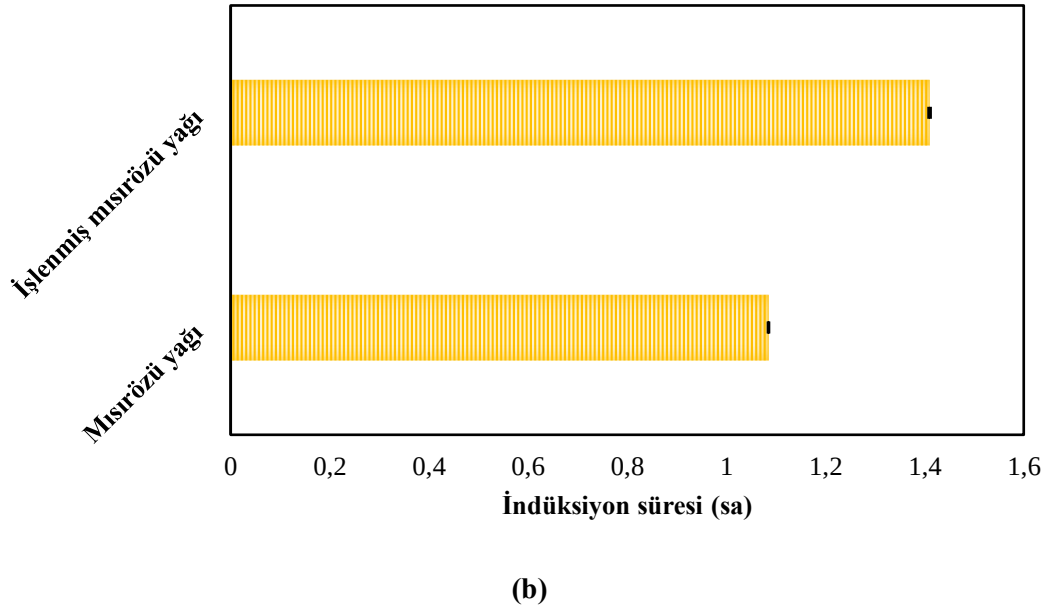
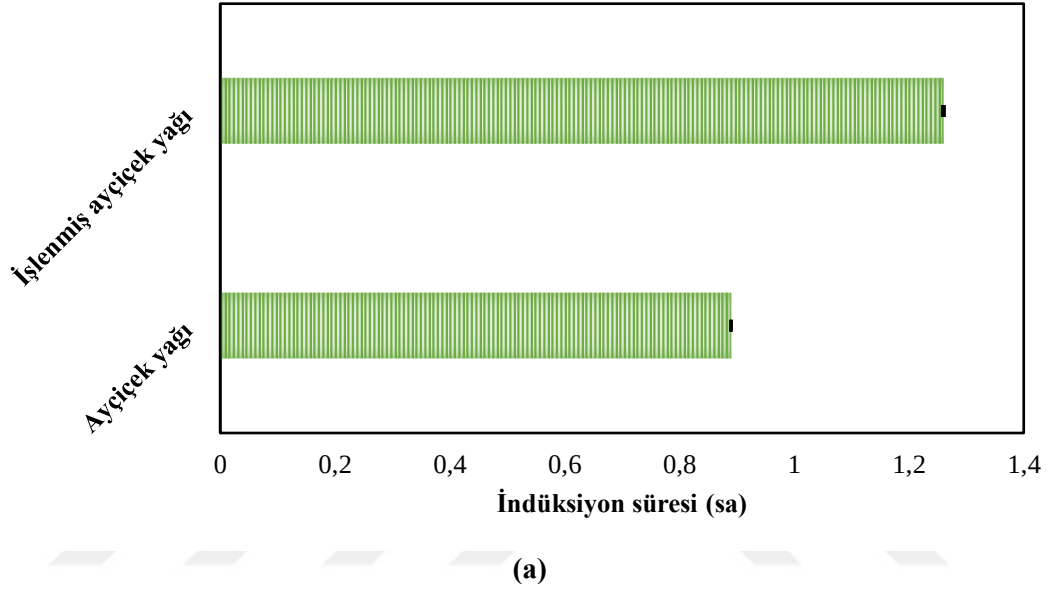
Benzer bir salım davranışı, Yoo ve diğ. tarafından aljinat taneciklerinde α - tokoferolün mikrokapsülasyonu üzerinde yapılan çalışmada gözlenmiştir [78]. Bu çalışmada, 24 saat boyunca SBS içinde salınan α - tokoferol miktarının (%81.5), SGS içinde salınan α - tokoferol miktarından (%28.8) önemli ölçüde daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Aljinat bazlı mikrokapsüllerin asidik koşullar altında oldukça stabil olduğu, ancak nötr veya alkaliye yakın koşullar altında kolayca şiştiği ve parçalandığı görülmüştür.

Elde edilen bulgulara dayanarak, erik kabuğu ekstraktı yüklü aljinat mikrokapsüllerin asidik ortama karşı yapısal olarak daha dirençli olduğu ve hafif alkali koşullar altında çekirdek malzemesini hızlı bir şekilde serbest bıraktığı sonucuna varılabilir.

4.1.4.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitésinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Lipid oksidasyonu, gıdanın depolanması ve dağıtımında ciddi bir sorun olup, yağ bakımından zengin gıdanın kalitesinin düşmesine neden olur. Ayrıca bazı oksidasyon ürünleri toksiktir ve yağ asitlerinin biyoyararlanımını azaltır. Doymamış yağ asitleri içeriği yüksek olan yağlar, doymuş yağ asitleri konsantrasyonu yüksek olanlara kıyasla oksidasyona daha duyarlıdır. Ayçiçek yağı ve mısırözü yağı gibi model gıda ürünleri olarak kullanılan bitkisel yağlar, doymamış yağ asitleri içeriği yüksek olmaları nedeniyle raf ömürleri nispeten kısa olan yağlardır. Bu yağlar, oksidasyon ve mikrobiyal bozunma yoluyla kalite kaybına ve hoş olmayan

tatların oluşmasına eğilimlidir. Bu nedenle çok önemli bir husus, doymamış yağ asitleri bakımından zengin olan bu yağların oksidasyonunun önlenmesidir [196]. Bu çalışmada, optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı yüklü mikrokapsüllerin, ayçiçek yağı ve mısırözü yağı gibi model gıda ürünlerine katılarak doğal bir antioksidan olarak stabilizasyon yeteneği incelenmiştir. Şekil 4.30, saf ve mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin 140°C’de indüksiyon sürelerini göstermektedir.



Şekil 4.30: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Mikrokapsül ilavesi sonucunda, hem ayçiçek yağı hem de mısırözü yağında indüksiyon süresinde belirgin artışlar gözlenmiştir. Şekil 4.30'dan görüldüğü üzere, mikrokapsül ilavesi sonucunda ayçiçek yağının indüksiyon süresinde %41.57 oranında artış görülürken, mısırözü yağının indüksiyon süresinde ise %29.95 artış gözlenmiştir. Elde edilen bulgular, mikrokapsülasyon teknolojisinin fenolik bileşiklerin yağlara eklenmesiyle birlikte, her iki yağ türünde de oksidatif stabiliteyi arttırdığını göstermektedir. Stabilite artışı, fenolik bileşiklerin yağların oksidasyona karşı direncini artırdığını ve dolayısıyla model gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatma potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.20, saf yağ numunelerinin ve erik kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüller ile işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.19: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.040 ± 0.001	0.052 ± 0.002
	İşlenmiş	0.099 ± 0.003	0.080 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.058 ± 0.001	0.0280 ± 0.002
	İşlenmiş	0.116 ± 0.002	0.0321 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

İşlenmiş ayçiçek yağının biyoaktif özellikleri, saf ayçiçek yağına göre TFM açısından ~1.48 kat artarken, antioksidan aktive açısından ise %53.78 oranında artmıştır. İşlenmiş mısırözü yağının biyoaktif özellikleri, saf mısırözü yağına göre TFM açısından 2 katına çıkarken, antioksidan aktivite açısından ise %14.64 oranında artmıştır. Mikrokapsül ilavesi, oksidatif stabiliteye ek olarak, her iki yağın TFM içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özelliklerinde de önemli bir artışa neden olmuştur. Bu bulgular, aljinat mikrokapsüllerin, yağın dış etkenlerden korunması ve gıda ürünlerinin besin değerinin artırılması amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mikrokapsül ilavesi sonucunda her iki yağın antioksidan aktivitesinde TFM'ye göre daha az artışın gözlenmesi, yağın yapısındaki antioksidan bileşiklerin oksidasyon sürecinde tükenerek etkinlikleri kaybetmeleriyle ilişkili olabilir.

4.1.5. Aljinat Boncuklarında Vişne Fenoliklerinin Mikroenkapsülasyonu

4.1.5.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Tablo 4.21, vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin üretimi için Design-Expert yazılımıyla YYM'nin Box-Behnken tasarımı kullanılarak yapılan 17 deneysel çalışmayı içeren çeşitli proses parametreleri kombinasyonlarını sunmaktadır. Tablo 4.21'de görüldüğü gibi, önerilen yöntemle yaklaşık %80'lik bir enkapsülasyon etkinliği sağlanmıştır. Öte yandan, üretilen mikrokapsüllerin DPPH radikal süpürme aktivitesi, gram kurutulmuş mikrokapsül başına 2.46 ile 3.26 trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) arasında değişmiştir.

Luca ve diğ., farklı duvar malzemeleri (Arap sakızı ve maltodekstrin karışımı) kullanılarak bir dondurarak kurutma yöntemiyle aynı ekstraktın kapsüllemesi için %86.07–98.29 etkili EE rapor etmişlerdir [197]. Dondurarak kurutma kapsülleme yönteminde soya proteini ve peynir altı suyu kullanıldığında, her bir duvar malzemesinin verimi sırasıyla %94.9 ve %90.1 olarak belirlenmiştir [198]. Ayrıca, çekirdek/duvar malzemesi oranı 1/10 olduğunda EE'nin %69.38 ile %77.83 arasında değiştiği bildirilmiştir [34]. Daha sonra, bu oran 1/20 olarak ayarlandığında, EE %78.80 ile %92.26 arasında değişmiştir. Oancea ve diğ., vişne kabuğu ekstraktını daha düşük verimle (neredeyse %70 EE) izole peynir altı suyu proteinlerinde kapsüllemiştir [114]. Aslında, kapsülleme veriminin, kapsülleme yöntemi, duvar malzemesi türü ve aktif malzemenin duvar malzemesine oranı gibi birçok faktöre bağlı olduğu görülmektedir. Basit, verimli ve ucuz bir yöntem olarak iyonik jelleşme, önerilen verimlerle iyi bir seçenek olabilir [190].

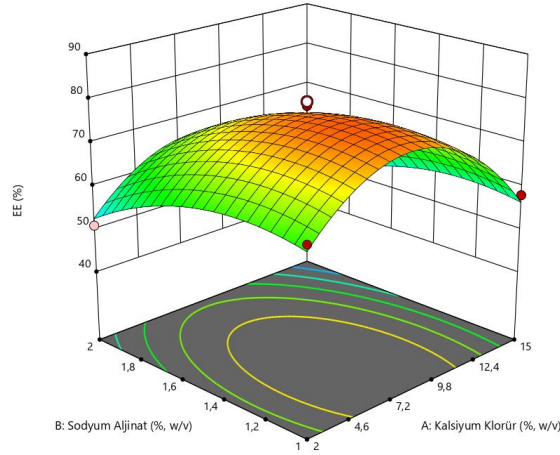
Tablo 4.20: Vişne kabuğu ekstraktından aktif maddelerin iyonik jelasyonu için Box-Behnken tasarımıyla oluşturulan deneysel sonuçlar*.

Deney No	A: Kalsiyum Klorür (% w/v)	B: Sodyum Aljinat (% w/v)	C: Sertleşme Süresi (dakika)	EE (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2	1.5	45	63.06	2.59 ± 0.004
2	8.5	15	30	79.19	3.06 ± 0.001
3	8.5	2	15	77.09	2.93 ± 0.001
4	8.5	1.5	30	78.53	3.08 ± 0.003
5	8.5	1.5	30	79.47	3.26 ± 0.004
6	2	1.5	15	71.78	2.70 ± 0.001
7	8.5	2	45	63.95	2.50 ± 0.006
8	2	2	30	50.96	2.75 ± 0.001
9	15	2	30	43.80	2.91 ± 0.005
10	8.5	1	15	81.74	2.75 ± 0.005
11	15	1.5	45	53.28	2.46 ± 0.006
12	8.5	1.5	30	74.07	3.02 ± 0.001
13	15	1	30	58.10	2.80 ± 0.001
14	8.5	1.5	30	72.56	3.22 ± 0.004
15	8.5	1	45	75.30	2.85 ± 0.004
16	2	1	30	65.07	3.00 ± 0.001
17	15	1.5	15	66.80	2.70 ± 0.003

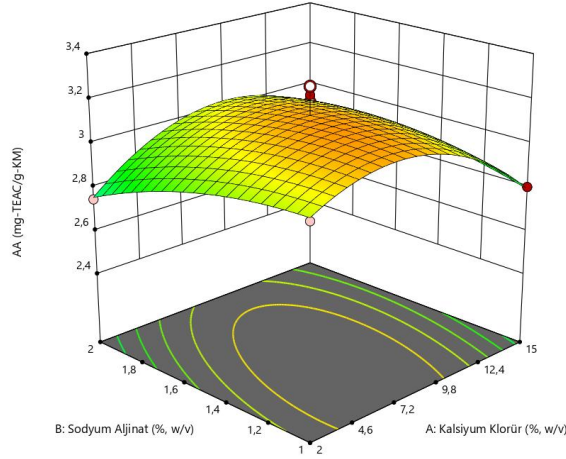
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Proses parametrelerinin etkilerini görsel olarak temsil etmek için kullanılan 3D grafikler, Design-Expert yazılımı tarafından üretilmiştir ve Şekil 4.31-4.33'te sunulmuştur.

Şekil 4.31, vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkilerini göstermektedir.



(a)

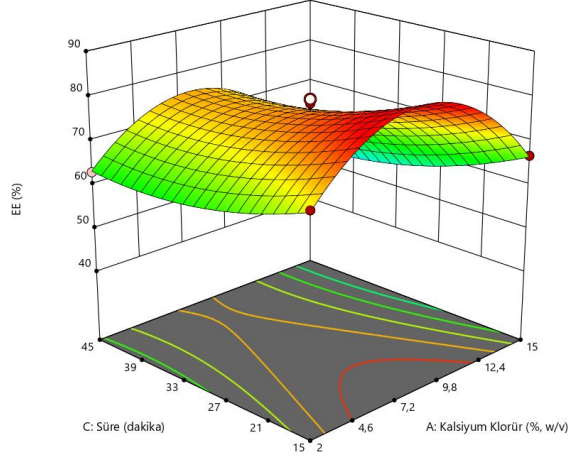


(b)

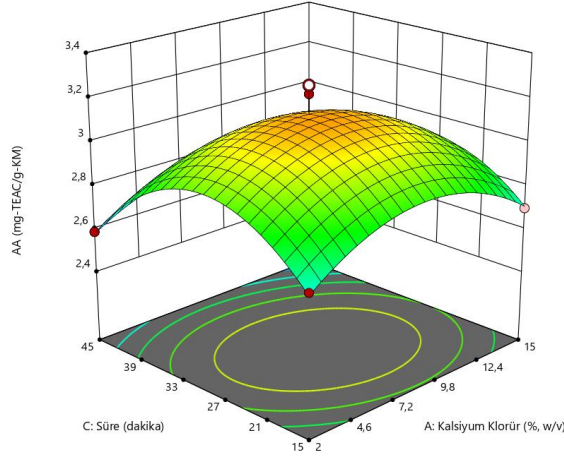
Şekil 4.31: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sertleşme süresinde (30 dakika) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sodyum aljinat konsantrasyonuna etkileri.

Şekil 4.31’de görüldüğü gibi, sodyum aljinat konsantrasyonu da ilk başta kapsüllemeyi desteklemiştir. Kapsül zarının kalınlığı arttıkça, aktif madde daha iyi korunur çünkü kapsül zarı geçirgenliği azalır. Bu nedenle, sodyum aljinat oranındaki artış, kapsülleme işleminin başarısını arttırabilir. Daha sonra, Şekil 4.31’de görüldüğü gibi optimum konsantrasyona ulaşıldıktan sonra her iki yanıt da azalmaya başlamıştır. Zam ve diğ. bu bulguyu, kapsülleme verimliliğinin ana nedeni olarak viskozitedeki artışla açıklamıştır [168]. Niizawa ve diğ., aljinat mikrokapsüllerinde astaksantin kapsüllemesinde de aynı aljinat etkisini gözlemlemiştir [199]. Bu durum, ekstraktın aktif maddesi yerine fazla aljinat ile kapsüldeki boş alanların doldurulmasına bağlanmıştır. Şekil 4.32, vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a)

enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)

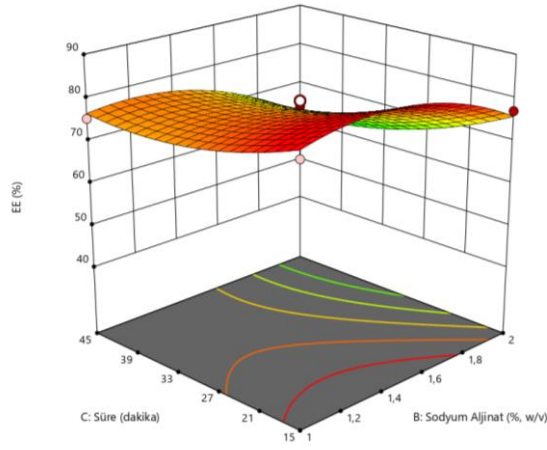


(b)

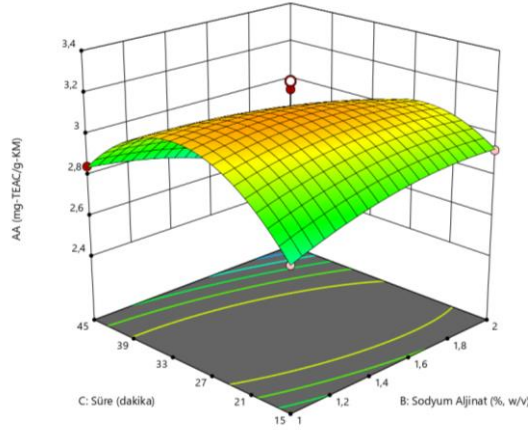
Şekil 4.32: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, sabit sodyum aljinat konsantrasyonunda (%1.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de görüldüğü gibi, mikrokapsüllerin EE ve antioksidan aktivitesi, Ca^{2+} iyonlarının kapsülleri oluşturmak için gerekli olması nedeniyle başlangıçta CaCl_2 konsantrasyonu ile keskin bir şekilde artmıştır. Jelin gücü, konsantrasyon artırılarak da artırılır [170]. Ancak, CaCl_2 için yaklaşık %10’luk bir konsantrasyondan sonra her iki yanıt da belirgin bir şekilde azalmıştır. Bu azalmanın sebebi, optimum konsantrasyona ulaşıldıktan sonra, polimer zincirindeki aktif Ca bağlanma yerlerinin doygunluğa ulaşması olabilir. Jelleşme

ortamı etkisinin benzer bir eğilimi Yousefi ve diğ. tarafından *Viola odorata* Linn. ekstraktının iyonik jelleşme ile kapsüllenmesi sırasında da rapor edilmiştir [200]. Halder ve diğ. yaptığı çalışmaya göre [201], jelleştirici ortamın iki değerlikli Ca^{2+} iyonlarının boncuklara aktarılması, aktif maddenin Ca^{2+} iyonları ile yer değiştirmesine neden olur. Bu nedenle, enkapsülasyon etkinliği daha yüksek CaCl_2 konsantrasyonlarında düşmüştür. Şekil 4.33, vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeler içeren mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.33: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, sabit kalsiyum klorür konsantrasyonunda (%8.5, w/v) (a) enkapsülasyon etkinliği ve (b) antioksidan aktivitesi üzerinde, sodyum aljinat konsantrasyonunun sertleşme süresine etkileri.

Sertleşme süresi dikkate alındığında, Şekil 4.32a ve 4.33a’da görüldüğü gibi, EE önemli ölçüde etkilenmemiştir. Kapsüllerin antioksidan aktivitesi, Şekil 4.32b ve 4.33b’de görüldüğü gibi

zamanla yaklaşık 30 dakikaya kadar artmıştır. Ardından serbest radikallere karşı aktivite zamanla azalmaya başlamıştır. Bunun nedeni büyük olasılıkla polar fenolik antioksidanların polar jelleşme ortamına aşırı maruz kalması nedeniyle ortama difüzyonunun gerçekleşmesidir [171]. Benzer sertleşme süresi etkileri, sırasıyla aljinat boncuklarda kimyon tohumu esansiyel yağının kapsüllemesi [173] ve aljinat/kitosan mikrokapsüllerde *yerba mate* ekstraktının kapsüllemesi [172] sırasında da gözlemlenmiştir.

4.1.5.2. Box-Behnken-Yanıt Yüzey Metodu Çalışması

Mevcut iyonik jelleşme sisteminin modellemesi ve optimizasyonu için Design-Expert yazılımı kullanılmıştır. Sistemde üç farklı faktörün her birinin üç seviyesi test edilmiştir. Bu nedenle Box-Behnken tasarımı (bağımsız bir ikinci dereceden tasarım yaklaşımı) uygun bir seçim olarak görülmüştür.

Design-Expert yazılımı tarafından, merkez noktalarda (%8.5 kalsiyum klorür konsantrasyonu, %1.5 sodyum aljinat konsantrasyonu ve 30 dakika sertleşme süresi) olmak üzere beş yinelemeli toplam 17 deneysel çalışma oluşturulmuştur.

Box-Behnken tasarımı tarafından türetilen ikinci dereceden tasarım modelleri, Denklem (4.9) ve Denklem (4.10)'da, sırasıyla her iki yanıt (EE ve AA) için kodlanmış faktörler cinsinden verilmiştir:

$$EE = 76.76 - 3.61 A + 5.55 B - 5.23 C - 0.0488 AB - 1.20 AC - 1.67 BC - 16.54 A^2 - 5.75 B^2 + 3.50 C^2 \quad (4.9)$$

$$AA = 3.13 - 0.0207 A - 0.0404 B - 0.0854 C + 0.0892 AB - 0.0311 AC - 0.1325 BC - 0.2025 A^2 - 0.0603 B^2 - 0.3135 C^2 \quad (4.10)$$

Modelleri istatistiksel olarak analiz etmek için ANOVA (varyans analizi) kullanılmıştır. Tablo 4.22 ve 4.23, aljinat boncuklarda vişne kabuğu ekstraktının iyonik jelleşmesinde sırasıyla EE ve AA değerlerine ilişkin %5 anlamlılık düzeyine sahip ANOVA test sonuçlarını göstermektedir.

Tablo 4.21: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

EE	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	1944.66	9	216.07	24.59	0.0002	önemli
A-Kalsiyum Klorür	104.32	1	104.32	11.87	0.0108	
B-Sodyum Aljinat	246.65	1	246.65	28.07	0.0011	
C- Sertleşme Süresi	218.65	1	218.65	24.89	0.0016	
AB	0.0095	1	0.0095	0.0011	0.9746	
AC	5.77	1	5.77	0.6567	0.4444	
BC	11.21	1	11.21	1.28	0.2959	
A²	1151.47	1	1151.47	131.06	<0.0001	
B²	139.00	1	139.00	15.82	0.0053	
C²	51.72	1	51.72	5.89	0.0457	
Kalıntı	61.50	7	8.79			
Uyum Eksikliği	20.23	3	6.74	0.6534	0.6215	önemsiz
Saf Hata	41.27	4	10.32			
Kor Toplam	2006.16	16			0.0002	
CV: % 4.36	$R^2=0.9693$		$R^2_a=0.9299$		$R^2_t=0.8065$	

Tablo 4.22: İyonik jelleşme yöntemi ile elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi bulguları.

AA	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F- değeri	p-değeri	
Model	0.8305	9	0.0923	14.67	0.0009	önemli
A-Kalsiyum Klorür	0.0034	1	0.0034	0.5462	0.4839	
B-Sodyum Aljinat	0.0130	1	0.0130	2.07	0.1931	
C- Sertleşme Süresi	0.0583	1	0.0583	9.28	0.0187	
AB	0.0318	1	0.0318	5.06	0.0593	
AC	0.0039	1	0.0039	0.6137	0.4591	
BC	0.0703	1	0.0703	11.17	0.0124	
A²	0.1726	1	0.1726	27.45	0.0012	
B²	0.0153	1	0.0153	2.44	0.1624	
C²	0.4137	1	0.4137	65.79	<0.0001	
Kalıntı	0.0440	7	0.0063			
Uyum Eksikliği	0.0012	3	0.0004	0.0364	0.9893	önemsiz
Saf Hata	0.0429	4	0.0107			
Kor Toplam	0.8746	16				
CV: % 2.78	$R^2=0.9497$		$R^2_a=0.8849$		$R^2_t=0.9020$	

Tablo 4.22 ve Tablo 4.23'te görüldüğü gibi, varyans analizine bağlı olarak Denklem (4.9) ve (4.10) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$, $F=24.59$ ve $F=14.67$).

Kapsüllerin enkapsülasyon etkinliği değerlerine ilişkin varyans analizi sonuçlarına göre, Tablo 4.22'de görüldüğü üzere p değerlerine bağlı olarak proses değişkenlerinin etkisine bakıldığında tüm proses parametreleri ve bu parametrelerin ikinci kuvvetleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). EE'ye göre değerlendirildiğinde, kalsiyum klorür konsantrasyonunun

ikinci dereceden kuvvetinin (A^2) en önemli parametre olduğu görülmektedir ($p<0.0001$, $F=131.06$). Bunu sırasıyla B, C, B^2 , A, C^2 parametreleri takip etmektedir ($p<0.05$).

Kapsüllerin antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans analizi sonucuna göre, Tablo 4.23'te görüldüğü üzere, p değerlerine bağlı olarak bağımsız değişkenlerin etkisine bakıldığında, sertleşme süresi (C) parametresi ($p<0.05$) dışında proses parametreleri (A ve B parametreleri) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Parametrelerin ikili etkileşimleri incelediğinde ise, sodyum aljinat konsantrasyonu ve sertleşme süresi arasındaki etkileşim (BC) parametresi ($p<0.05$) dışında ikili etkileşimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca, sodyum aljinat konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti (B^2) parametresi dışında, diğer proses parametrelerinin ikinci dereceden kuvvetleri (A^2 ve C^2 parametreleri) AA yanıt değişkeni üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<0.05$). Sertleşme süresinin ikinci dereceden kuvveti (C^2), AA yanıt değişkeni üzerinde en yüksek F değeri ($F=65.79$) ve en küçük p değeri ($p<0.0001$) ile en anlamlı parametre olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla anlamlı parametreler olarak A^2 , BC ve C parametreleri izlemiştir ($p<0.05$).

Her iki yanıt değişkeni için (EE ve AA), uyum eksikliği değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Bu bulgu, Box-Behnken tasarımıyla türetilen ikinci dereceden tasarım modellerinin verilere uygun olduğunu göstermektedir. Determinasyon katsayısı (R^2), ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 ($R^2>0.94$, $R^2_a>0.88$ ve $R^2_t>0.80$) gibi diğer model uyum istatistikleri dikkate alındığında her iki model de deneysel bulgunun temsili için tatmin edici görünmektedir.

Tablo 4.22 ve Tablo 4.23'ten görüldüğü üzere, %10'un altındaki CV değerleri, verilerin ortalama etrafındaki değişkenliğinin düşük olduğunu göstermektedir (%4.36 ve %2.78). CV, verilerin ortalama etrafındaki dağılımı temsil ettiği için, bu tatmin edici bir bulgudur çünkü CV ne kadar küçük olursa, ortalama etrafında o kadar az değişiklik olur. Ayrıca, her iki yanıt değişkeni için (EE ve AA), ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 değerleri arasındaki farkın 0.2'den az olması, modellerin makul bir uyum içinde olduğunu göstermektedir.

4.1.5.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Aljinat mikro boncuklarda vişne kabuğu ekstraktının mikroenkapsülasyonunda maksimum EE verimi ve AA elde etmek için bir optimizasyon çalışması yapılmıştır. Tablo 4.24, mevcut iyonik jelleşme sistemi için maksimum EE verimi ve AA'ya sahip optimum koşulları sunmaktadır. Öngörülen koşulları doğrulamak için Tablo 4.24'te verilen optimum koşullarda deneysel

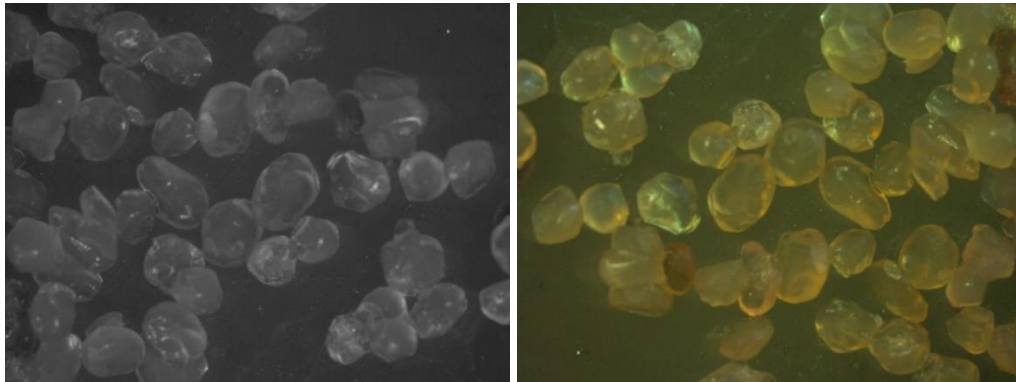
çalışmalar yapılmıştır. Box-Behnken tasarımı ile elde edilen ikinci dereceden model denklemlerinin doğruluğu, tahmini ve gerçek EE ile AA değerleri arasındaki farkın %2'den az olmasıyla desteklenmektedir.

Tablo 4.23: Vişne kabuğu ekstraktının iyonik jelleşme yöntemi ile mikrokapsülasyonu için optimum koşullar altında yanıtların tahmini ve gerçek değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç (%)	DeneySEL Sonuç (%)	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (dakika)				
7.836	1.332	26.304	EE(%)	79.507	78.125	1.74
			AA (mg-TEAC/g-KM)	3.128	3.079	1.57

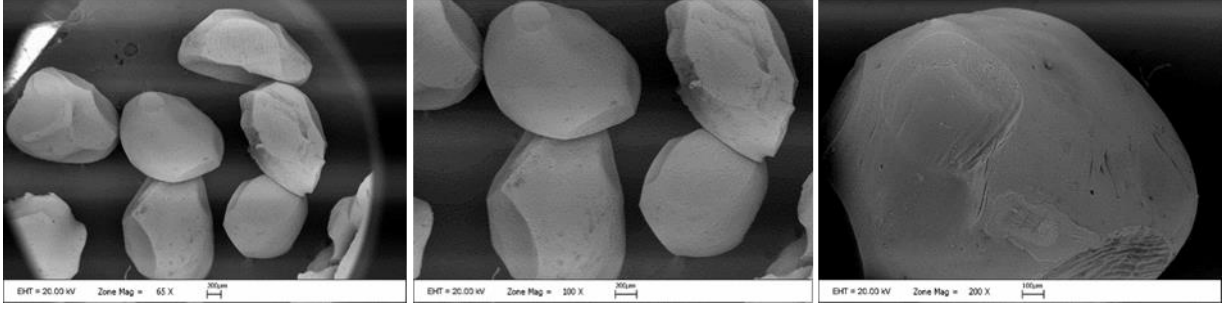
4.1.5.4. Mikrokapsüllerin Parçacık şekli ve Morfolojisi

Aktif maddelerin iletimi için düzgün (tek biçimli) bir boyut dağılımına sahip küresel boncuklar tercih edildiğinden, boncukların boyutu ve şekli, gıda ve farmasötik ürünler için önemli parametreleri temsil etmektedir [58]. Genel olarak elde edilen kapsüllerin minimum, ortalama ve maksimum çap değerleri sırasıyla 0.150 ± 0.008 mm, 0.175 ± 0.012 mm ve 0.191 ± 0.005 mm olarak ölçülmüştür. Mikrokapsül analizleri sonucunda küresellik değeri ve şekil faktörü sırasıyla 0.0470 ± 0.0170 ve 1.126 ± 0.0230 olarak ölçülmüştür. KD ve SF bulgularına bağlı olarak kapsüllerin kabul edilebilir bir formda olduğunu söylemek mümkündür. Şekil 4.34, optimum iyonik jelleşme koşullarında vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin görüntülerini göstermektedir.



Şekil 4.34: Optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin mikrofotografı.

Şekil 4.35, vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntülerini göstermektedir.

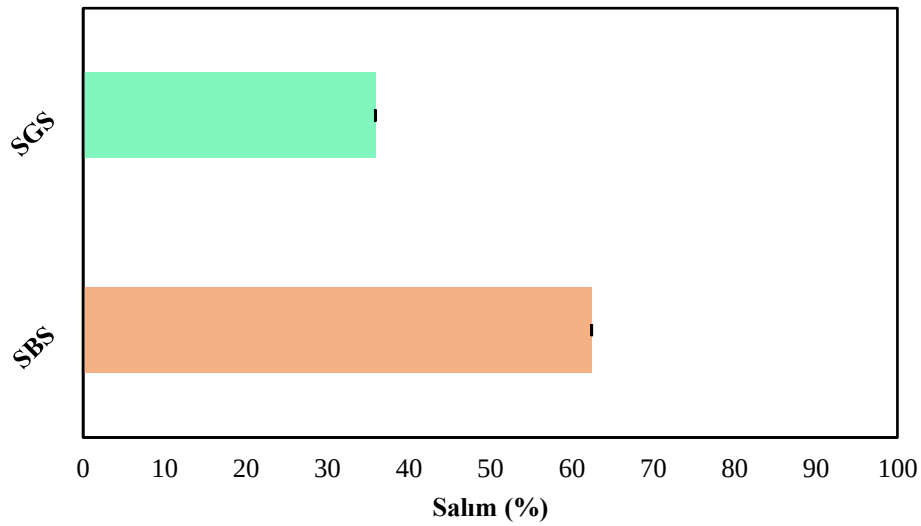


Şekil 4.35: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren aljinat mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri.

Şekil 4.35'te görüldüğü gibi, SEM görüntüleri önceki boyut bulgularını desteklemektedir. Aljinat ve fenolik maddeler arasındaki bağ nedeniyle kapsüller pürüzsüz ve homojendir [202]. Ayrıca SEM görüntüleri, tüm elde edilen kalsiyum aljinat mikrotaneciklerinin sert ve küresel olduğunu ve nispeten düzenli bir dağılım boyutuna sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.5.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen mikrokapsüller, biyoaktif bileşenlerin biyoyararlanımını değerlendirmek amacıyla *in vitro* simüle edilmiş salım sistemlerine tabi tutulmuştur. Şekil 4.36, optimum koşullarda kapsüllenmiş vişne kabuğu ekstraktından TFM'nin iki simüle edilmiş sistemde (gastrik ve bağırsak sıvıları) çözünmesini göstermektedir. Mide sisteminde %35.88'lik bir salım gözlemlenmiştir. Daha sonra simüle edilmiş bağırsak sistemindeki parçacıklardan fenolik maddelerin %62.46'sı salınmıştır. Bağırsak sıvısındaki (pH=7.4) polifenol salımı, mide sıvısındakinden (pH=1.5) daha fazla bulunmuştur (%62.46'ye karşılık %35.88). Bu durum, duvar malzemesinin ortamın asit koşullarına karşı direnci ile ilgili olabilir [203]. Şaponjac ve diğ. tarafından pancar posası özü içeren mikropartiküllerin *in vitro* salım testi sırasında benzer bir salım eğilimi de bildirilmiştir (%39.03'e karşılık %27.82) [177]. Son zamanlarda Güngör ve diğ., zencefil polifenollerinin modifiye nişasta ile kaplanmış mikropartiküllerden benzer salınım davranışlarını incelemiştir [204]. Bu çalışmada da TFM'nin salınımı bağırsak sisteminde mide sistemine göre daha yüksek (%35.97'ye karşı %33.98) bulunmuştur.

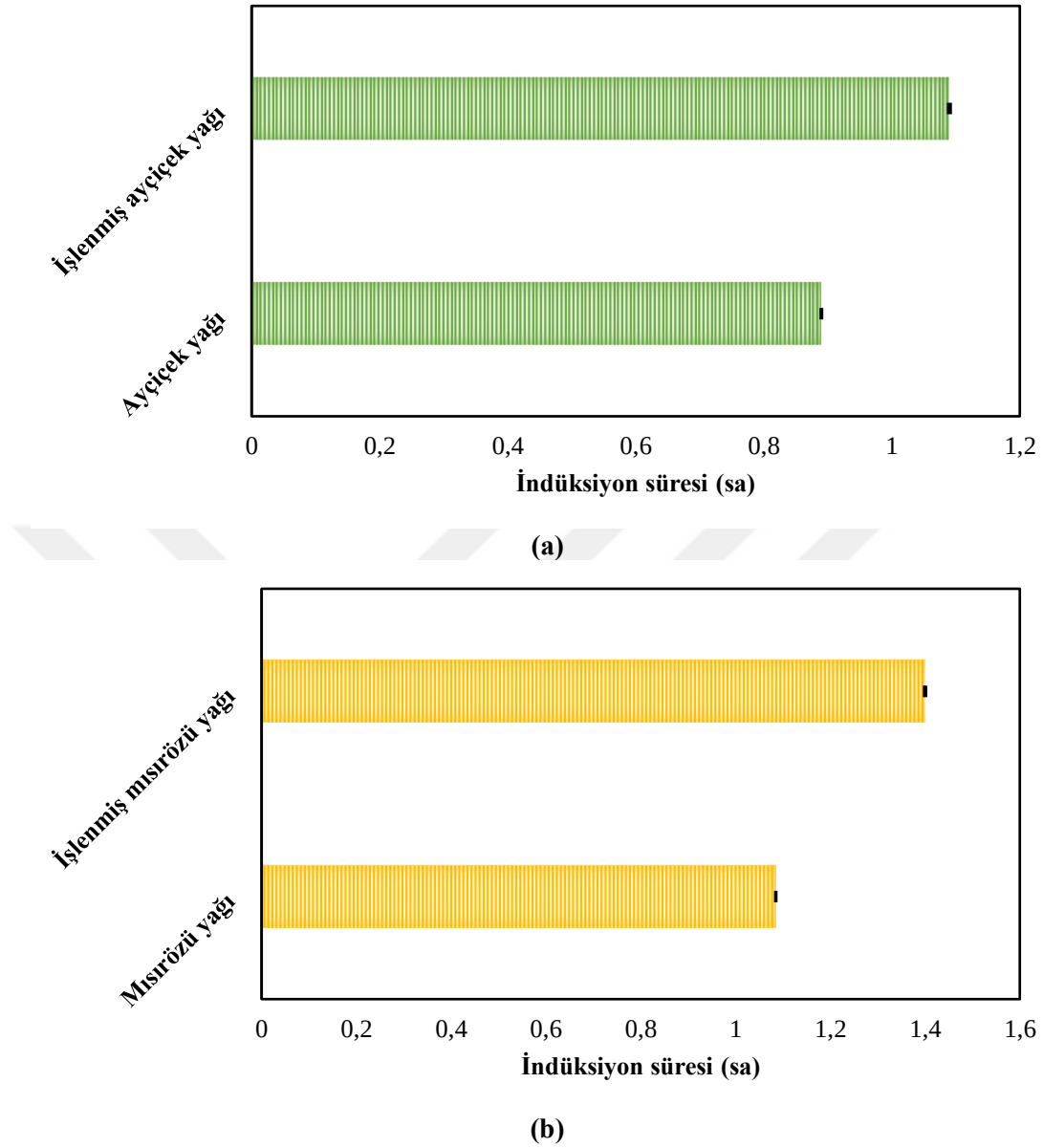


Şekil 4.36: Optimum iyonik jelleşme koşullarında vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.1.5.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüller optimum koşullarda üretildikten sonra iki popüler gıda ürünüde fonksiyonel gıda bileşeni olarak uygulanmıştır. Bu çalışma için model gıdalar olarak ayçiçek yağı ve mısırözü yağı seçilmiştir. Yağ içeren gıda ürünlerinde oksidasyonu önlemek amacıyla sentetik antioksidanlar eklenmektedir. Aksi takdirde, lipid oksidasyonu üründe kötü koku ve renk oluşmasına neden olabilir ve bu da ürünün pazarlanmasını etkileyebilir. Çeşitli araştırmalar sentetik katkı maddeleri yerine doğal bitki özlerinin kullanılmasını önermektedir [205]. Bununla birlikte, ürüne doğrudan ekstraktın uygulanmasının birçok dezavantajı vardır; kapsüllenmiş malzemeler gıda işleme ve depolama sırasında stabilite sağlar, polifenoller çevresel etkilerden korur, arzu edilen gıda özelliklerini geliştirir ve hoş olmayan aromayı maskeleyebilir [105].

Şekil 4.37 sırasıyla işlenmiş ve işlenmemiş yağ numunelerinin indüksiyon sürelerini göstermektedir. Çalışmanın sonuçlarına göre, ayçiçek yağındaki indüksiyon süresi %22.47 oranında artarken, mısırözü yağındaki indüksiyon süresi %29.03 oranında artmıştır. Şekil 4.37'den de görüldüğü üzere, her iki yağda da lipid oksidasyonuna karşı dirençte %20 oranından fazla bir artış gözlemlenmiştir. Bu bulgular, ayçiçek yağı ve mısırözü yağı gibi yaygın olarak kullanılan yağların oksidasyona karşı direncinin arttığını göstermektedir.



Şekil 4.37: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum iyonik jelleşme koşullarında vişne kabuğu ekstraktı içeren aljinat mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Fenolik bileşikler, redoks özelliklerinden dolayı antioksidan özelliğe sahiptir; indirgeyici maddeler, hidrojen vericiler ve tekli oksijen söndürücüler olarak hareket ederler. Fenoller ayrıca metal şelatlama potansiyeline de sahip olabilirler [206].

Tablo 4.25'ten de görüldüğü üzere, yağ örneklerinin sadece indüksiyon sürelerinde değil, aynı zamanda polifenol seviyeleri ve antioksidan aktivitesi gibi diğer kalite parametrelerinde de önemli ölçüde iyileşme gözlemlenmiştir. Ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri ise toplam fenolik madde açısından saf ayçiçek yağına göre ~ 1.23 kat artarken, antioksidan aktivite açısından %97.48 oranında artmıştır. İşlenmiş mısırözü yağının toplam fenolik madde içeriği

saf mısırözü yağının 2 katı olarak ölçülmüştür. Ayrıca işlenmiş mısırözü yağının fonksiyonel özelliği antioksidan aktivite açısından saf mısırözü yağına göre %35.71 oranında artmıştır. Bu iyileştirmeler, yağların dayanıklılığını artırarak ürünlerin raf ömrünü uzatma ve besin değerlerini koruma potansiyeline sahiptir.

Tablo 4.24: Bitkisel yağlarda optimum iyonik jelleşme koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ	TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.040 ± 0.001
	İşlenmiş	0.089 ± 0.003
Mısırözü	İşlenmemiş	0.058 ± 0.001
	İşlenmiş	0.116 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2. PÜSKÜRTMELİ KURUTMA YÖNTEMİYLE MİKROENKAPSÜLASYON ÇALIŞMALARI

4.2.1. Zeytin Yapağı Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu

4.2.1.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Püskürtmeli kurutma sisteminin başarısı, mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivitesi ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.37, zeytin yapağı ekstraktının maltodekstrin, Arap zankı veya maltodekstrin/Arap zankı karışımları içinde kapsüllenmesi için kullanılan püskürtmeli kurutma sistemine ait deneysel tasarım planını göstermektedir. Püskürtmeli kurutmanın kullanıldığı sistemlerde yine Design-Expert yazılımı (12.0.1.0 sürümü, StatEase Inc., ABD) kullanılarak özel tasarım (custom design) altında bulunan kombine tasarım (combined design) seçilerek I-optimal dizayn alt türü uygulanmıştır. Bu şekilde 19 tane deney çalışması planlanmıştır.

Tablo 4.25: Zeytin yaprağı ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.

Deney No	A: Arap zımkı (% w/v)	B: Maltodekstrin (% w/v)	C: Giriş Sıcaklığı (°C)	EE (%)	KV (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2.5	7.5	145	82.64	67.95	5.55 ± 0.001
2	5	5	160	88.18	71.87	5.68 ± 0.003
3	2.5	7.5	130	82.39	69.87	4.95 ± 0.001
4	7.5	2.5	145	89.38	65.89	5.33 ± 0.001
5	5	5	190	89.50	74.44	4.66 ± 0.006
6	10	0	130	88.35	56.02	5.31 ± 0.003
7	0	10	160	84.25	67.78	5.76 ± 0.001
8	0	10	190	81.42	63.20	5.74 ± 0.001
9	2.5	7.5	175	85.69	70.46	5.72 ± 0.001
10	5	5	130	89.98	70.62	4.82 ± 0.005
11	7.5	2.5	175	87.26	65.89	5.08 ± 0.006
12	10	0	190	86.71	57.23	4.03 ± 0.006
13	10	0	160	84.70	59.67	4.97 ± 0.004
14	0	10	160	81.24	65.82	5.74 ± 0.006
15	10	0	160	85.52	57.89	4.99 ± 0.005
16	5	5	190	87.92	72.24	4.84 ± 0.001
17	5	5	160	88.93	71.04	5.64 ± 0.006
18	0	10	130	67.37	60.34	5.65 ± 0.003
19	5	5	160	86.33	71.35	5.69 ± 0.005

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Kurutma verimliği, karışım bileşenlerine (A ve B) ve proses faktörüne (C) bağı olarak %56.02 ile %74.44 arasında değişmektedir. Bulgularımız, zeytin yaprağı ekstraktının vakumda kızartılmış nişasta-gluten hamurlarında kapsüllenmesi için Urzúa ve diğ. tarafından bildirilen %38 ile %73.1 arasındaki kurutma verimliliği değerleriyle uyumlu bulunmuştur [207]. Bu bulgular, sodyum aljinat içinde zeytin yaprağı ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikrokapsülasyonu için González ve diğ. [208] tarafından elde edilen bulgulara kıyasla daha etkilidir. Ancak Ganje ve diğ., zeytin yaprağı ekstraktını maltodekstrin ile kapsüllemek için dondurarak kurutma yöntemini kullanmıştır ve bu yöntemin kurutma verimliliği %62 olarak belirlenmiştir [209].

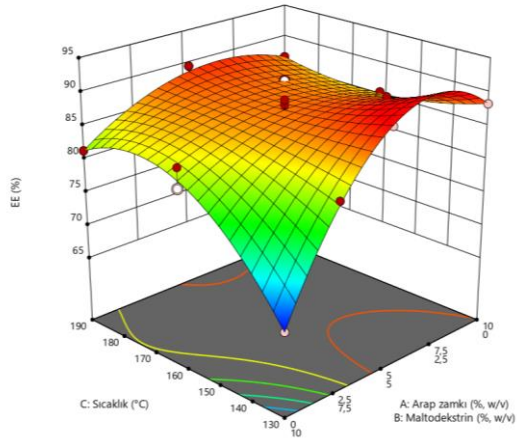
Tablo 4.26'dan görüldüğü üzere, EE değerleri %67.37 ile %89.98 arasında değişmektedir. Kiritsakis ve diğ., kurutma verimlerini toplam fenolik madde miktarına dayalı olarak %71-73 aralığında bildirmişlerdir [210]. Ayrıca, EE değerlerimiz, kitosan içinde püskürtülerek

kurutulmuş zeytin yaprağı ekstraktının EE değerlerinden daha yüksek bulunmuştur [211]. Mikrokapsüllerin DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi ise, Tablo 4.26’da sunulan verilere göre 4.03 ile 5.76 mg-TEAC/g-KM aralığında yer almaktadır. Bayraktar ve diğ. yaptığı çalışmada, ipek fibroinde zeytin yaprağı ekstresi mikropartiküllerinin antioksidan aktivitesini değerlendirmiştir. Sonuçlar, serbest radikal (ABTS) süpürme aktivitesinin 0.102 ile 0.277 mg-TEAC/g-KM aralığında değiştiğini göstermektedir [212].

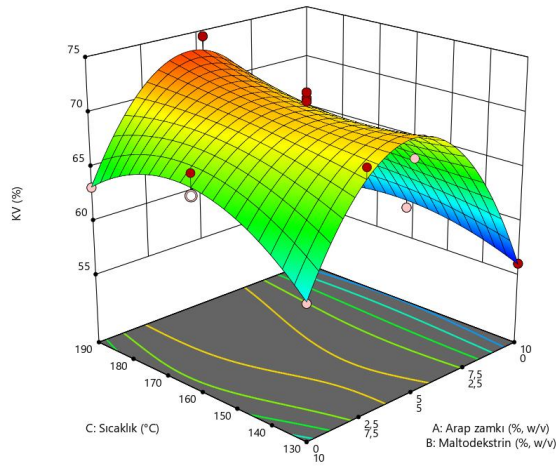
Maltodekstrin ve Arap zımkı karışımının, daha önceki çalışmalarda aktif maddeler ve fonksiyonel özellikler üzerinde koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir [213–215]. Bu nedenle, bu çalışmada kaplama malzemesi olarak tercih edilmiştir.

Şekil 4.38’de görüldüğü gibi, Design-Expert yazılımı aracılığıyla elde edilen üç boyutlu grafikler, proses parametrelerinin yanıtlar üzerindeki etkilerini görsel olarak sunmaktadır.

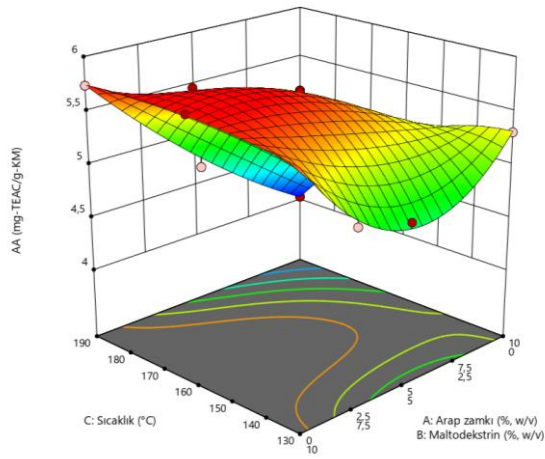
Şekil 4.38, zeytin yaprağı ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve proses faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği ve (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.38: Zeytin yaprağı ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri.

Şekil 4.38a’da görüldüğü gibi giriş sıcaklığı 160 °C’ye kadar EE açısından verimlidir. Daha sonra 190 °C’ye kadar hemen hemen kararlılığını korumuştur. Bu durum, maltodekstrin ve Arap zankı karışımının belirli bir sıcaklık aralığında optimal performans sergilediğini gösterebilir.

Şekil 4.38b, kurutma verimliliği üzerinde maltodekstrin/Arap zankı karışımının sıcaklığa etkilerini göstermektedir. Beklenildiği gibi, sıcaklığın artması ısı ve kütle transferlerindeki artış nedeniyle kurutma verimliliğini arttırmıştır [216]. Ancak, sıcaklık belirli bir noktaya ulaştıktan sonra kurutma verimliliği düşmeye başlamıştır. Benzer bir gözlem, *Chlorella vulgaris*’in maltodekstrin içinde püskürtülerek kurutulması sırasında Konar ve diğ. tarafından da rapor edilmiştir [143]. Ayrıca, Tan ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada, kapsüllenmiş acı kavun sulu ekstrakt tozunun verimliliği üzerinde benzer bir sıcaklık etkisi gözlemlendiği rapor edilmiştir [213]. Bu durum, kaplama yapısının bozulması nedeniyle ekstraktın yüzeyde istenen şekilde tutunamaması ile açıklanabilir [217].

Şekil 4.38c, antioksidan aktivite üzerinde maltodekstrin/Arap zankı karışımının sıcaklığa etkilerini göstermektedir. Antioksidan aktivite giriş sıcaklığından olumlu etkilenmiştir. Benzer şekilde, propolis ekstraktının maltodekstrin ve Arap zankı ile mikroenkapsülasyonu üzerinde sıcaklığın pozitif etkisi olmuştur [218].

4.2.1.2. Modelleme Çalışması

Becerra ve Goos’un (2021) çalışmasına göre, karışım deneylerinde bileşenlerin oranına göre optimizasyon sağlamak için I-optimal tasarım tercih edilir [138]. Bu nedenle, özellikle karışım deneylerinde D-optimal tasarım türüne göre daha iyi sonuçlar verir. Değişkenler arasında ilişki kurabilmek için Design-Expert yazılımı ile Denklem 4.11-4.13’te verilen modeller üretilmiştir.

$$EE = 85.28A + 82.39 B + 14.45 AB - 0.8469 AC + 7.01 BC - 15.26 ABC + 2.27 AC^2 - 8.01 BC^2 + 19.27 ABC^2 \quad (4.11)$$

$$KV = 58.63 A + 66.53 B + 32.04 AB + 0.5456 AC + 1.38 BC + 0.6681 ABC - 2.12 AC^2 - 4.66 BC^2 + 19.32 ABC^2 \quad (4.12)$$

$$AA = 4.98 A + 5.75 B + 1.25 AB - 0.6483 AC + 0.0607 BC + 1.18 ABC - 0.3058 AC^2 - 0.0677 BC^2 - 2.92 ABC^2 \quad (4.13)$$

Bu denklemlerde, Arap zankı konsantrasyonu (A, % w/v), maltodekstrin konsantrasyonu (B, % w/v) ve giriş sıcaklığı (C, °C) bağımsız değişkenleri, toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği (EE, %), kurutma verimliliği (KV, %) ve antioksidan aktivitesi (AA, mg-TEAC/g-KM) ise bağımlı değişkenleri temsil etmektedir.

Modellerin istatistiksel değerlendirmesi için ANOVA (varyans analizi) yöntemi uygulanmıştır. Tablo 4.27, zeytin yaprağı ekstraktının maltodekstrin, Arap zımkı veya maltodekstrin/Arap zımkı karışımları içerisinde püskürtmeli kurutma ile mikrokapsülasyonu için sırasıyla EE_{TFM}, KV ve AA değerlerine yönelik ANOVA test sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.26: Zeytin yaprağı ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

Kaynak	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
Model	456.24	8	57.03	40.12	< 0.0001	önemli
⁽¹⁾ Lineer Karışım	144.44	1	144.44	101.61	< 0.0001	
AB	24.59	1	24.59	17.30	0.0020	
AC	1.50	1	1.50	1.05	0.3290	
BC	105.53	1	105.53	74.24	< 0.0001	
ABC	26.71	1	26.71	18.79	0.0015	
AC ²	5.26	1	5.26	3.70	0.0833	
BC ²	66.77	1	66.77	46.97	< 0.0001	
ABC ²	20.66	1	20.66	14.53	0.0034	
Kalıntı	14.22	10	1.42			
Uyum Eksikliği	4.54	5	0.9077	0.4690	0.7872	önemsiz
Saf Hata	9.68	5	1.94			
Kor Toplam	470.46	18				
CV: % 1.40	$R^2=0.9698$		$R^2_a=0.9456$		$R^2_t=0.9172$	
Model	566.51	8	70.81	44.68	< 0.0001	önemli
⁽¹⁾ Lineer Karışım	106.92	1	106.92	67.45	< 0.0001	
AB	120.92	1	120.92	76.29	< 0.0001	
AC	0.6214	1	0.6214	0.3920	0.5453	
BC	4.10	1	4.10	2.59	0.1386	
ABC	0.0512	1	0.0512	0.0323	0.8609	
AC ²	4.57	1	4.57	2.88	0.1203	
BC ²	22.62	1	22.62	14.27	0.0036	
ABC ²	20.76	1	20.76	13.10	0.0047	
Kalıntı	15.85	10	1.59			
Uyum Eksikliği	9.54	5	1.91	1.51	0.3301	önemsiz
Saf Hata	6.31	5	1.26			
Kor Toplam	582.36	18				
CV: % 1.90	$R^2=0.9728$		$R^2_a=0.9510$		$R^2_t=0.8150$	
Model	4.18	8	0.5222	190.42	< 0.0001	önemli
⁽¹⁾ Lineer Karışım	1.61	1	1.61	588.61	< 0.0001	
AB	0.1827	1	0.1827	66.62	< 0.0001	
AC	0.8772	1	0.8772	319.87	< 0.0001	
BC	0.0079	1	0.0079	2.89	0.1203	
ABC	0.1592	1	0.1592	58.05	< 0.0001	
AC ²	0.0953	1	0.0953	34.74	0.0002	
BC ²	0.0048	1	0.0048	1.74	0.2165	
ABC ²	0.4738	1	0.4738	172.76	< 0.0001	
Kalıntı	0.0274	10	0.0027			
Uyum Eksikliği	0.0102	5	0.0020	0.5909	0.7111	önemsiz
Saf Hata	0.0172	5	0.0034			
Kor Toplam	4.21	18				
CV: % 0.9935	$R^2=0.9935$		$R^2_a=0.9883$		$R^2_t=0.9171$	

ANOVA analizi sonuçlarına göre, üç farklı yanıt değişkeni için üretilen modeller istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$). Bu durum, her bir yanıt değişkeninin, bağımsız değişkenler tarafından anlamlı bir şekilde açıklandığını ve modelin güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, her üç yanıt değişkeni için lineer karışım terimleri de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$). Lineer karışım terimleri, modelin karmaşıklığını artırarak bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri gösterir ve bu sayede yanıt değişkenlerini daha iyi açıklar.

Enkapsülasyon etkinliği yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, A, B, AB, BC, ABC, BC^2 ve ABC^2 model terimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Analiz sonuçlarına göre, ikinci yanıt değişkenini temsil eden kurutma verimliliği değeri için A, B, AB, BC^2 ve ABC^2 model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Diğer yandan, üçüncü yanıt değişkenini temsil eden antioksidan aktivite değeri için A, B, AB, AC, ABC, AC^2 ve ABC^2 model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Benzer şekilde, Velazquez-Martinez ve diğ., maltodekstrin, Arap zıncı ve bunların şeker kamışı küspesi biyoaktif bileşiklerinin EE'si üzerindeki etkileşimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmiştir [219]. Yousefi ve diğ. ise, pancar ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonunda maltodekstrin ve Arap zıncının etkileşimlerinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğunu gözlemlemiştir [220]. Tablo 4.27'de verilen varyans analizinin uyum istatistikleri değerlendirildiğinde, uyum eksikliği, varyans katsayısı, R^2 , R_a^2 ve R_t^2 değerlerinin istatistiksel olarak tatmin edici olduğu görülmektedir.

Anlamlı olmayan uyum eksikliği değerleri ($p > 0.05$), türetilen modellerin verilere iyi uyduğunu göstermektedir. %10'dan düşük olarak elde edilen varyasyon katsayısı (CV) değerleri deneysel çalışmanın güvenilir olduğunu göstermektedir. Ek olarak, determinasyon katsayısı değerleri (R^2 , ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2), modeller (Denklem (4.11)- (4.13)) için tatmin edici bulguları desteklemektedir.

4.2.1.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Zeytin yaprağı ekstraktının ilgili duvar malzemelerinde püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu için en yüksek EE, KV ve AA değerleri elde etmek amacıyla bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.28, maksimum yanıtlara sahip püskürtmeli kurutma sistemi için optimum koşulları vermektedir. Arzu edilebilirlik (desirability)

fonksiyonu kullanılarak sayısal optimizasyonla birleştirilmiş yanıt yüzeyi yöntemiyle üretilen optimum koşulların doğrulanması da yazılım aracılığıyla gerçekleştirilmiştir [221]. Maksimum yanıtlarla elde edilen optimum koşullar, teorik (beklenen) ve pratik (deneysel) sonuçlar olarak sırasıyla Tablo 4.28’de verilmiştir. Deneysel ve beklenen sonuçlar arasındaki fark oldukça kabul edilebilir düzeydedir ($< \%2$).

Tablo 4.27: Zeytin yaprağı ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite için optimum koşullar*.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç	Deneysel Sonuç	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (°C)				
3.658	6.342	165.470	EE (%)	86.916	88.001	1.25
			KV (%)	71.324	70.190	1.62
			AA (mg-TEAC/g-KM)	5.744	5.699	0.79

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2.1.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında üretilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüller, nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Carr indeksi, partikül boyutu dağılımı ve toz morfolojisi açısından karakterize edilmiştir.

Tablo 4.29, zeytin yaprağı ekstraktının Tablo 4.28’de verilen optimum koşullarda mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüllerin nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük (%), yığın yoğunluğu (kg/m^3), sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (kg/m^3) ve Carr indeksi gibi bazı kalite özelliklerini sunmaktadır.

Tablo 4.28: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.

Nem (%)	Su Aktivitesi	Çözünürlük (%)	Yığın Yoğunluk (kg/m^3)	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluk (kg/m^3)	Carr indeksi (%)
4.64 ± 0.86	0.23 ± 0.02	96.28 ± 1.73	260.47 ± 6.47	380.13 ± 9.51	31.48 ± 2.66

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.29’den görüldüğü üzere, optimum koşullardaki mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivitesi değerleri sırasıyla $\%4.64 \pm 0.86$ ve 0.23 ± 0.02 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, Şahin-Nadeem ve diğ. tarafından püskürtülerek kurutulmuş hazır adaçayı tozu için elde edilen değerler ile uyumludur [163]. Ayrıca, $\%5$ ’ten az nem içeriğine sahip hazır adaçayı tozunun, depolama sırasında paketlemede daha fazla stabilite gösterdiğini belirtmişlerdir.

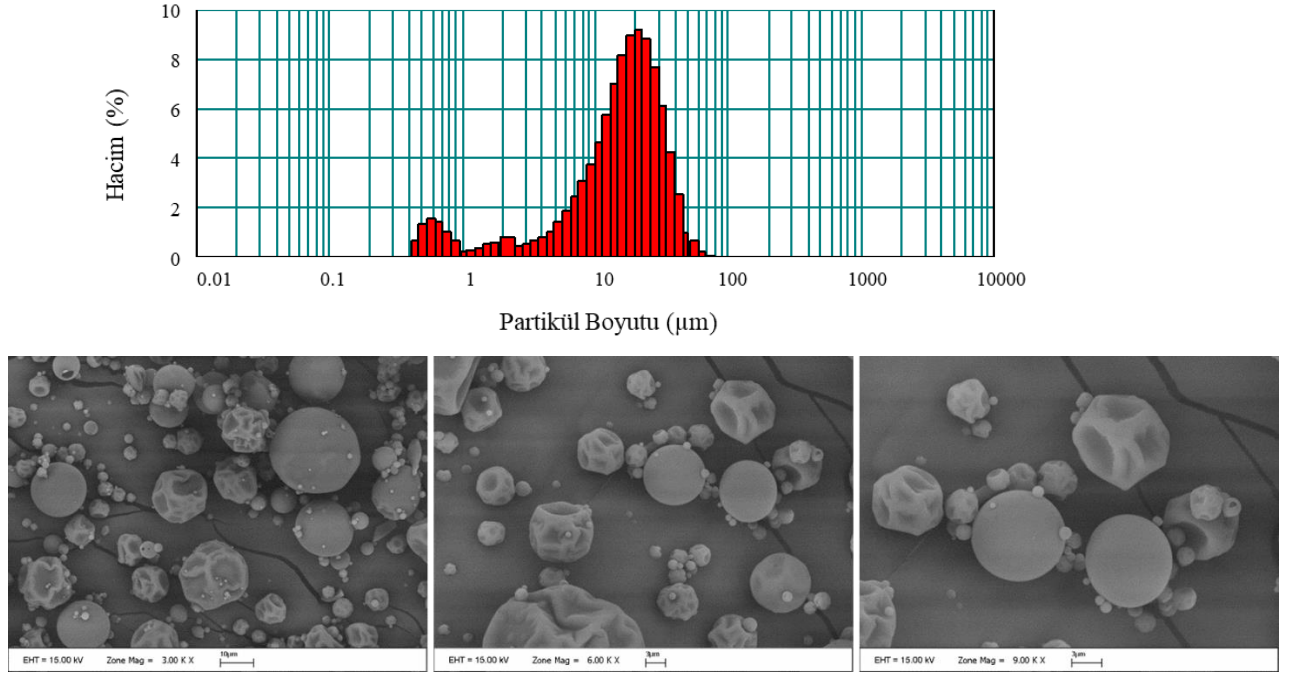
Çözünürlük, gıda tozlarının kalite özelliklerinden biridir ve tozun suda bir çözelti veya süspansiyon oluşturma yeteneğini ifade eder. Püskürtmeli kurutma ile üretilen tozların çoğunda, özellikle gıda katkı maddesi olarak kullanıldığında yüksek çözünürlük arzu edilir. Bu bağlamda, optimum koşullardaki mikrokapsüllerin suda çözünürlük değeri 96.28 ± 1.73 olarak belirlenmiştir. Bu bulgu, elde edilen tozun oldukça iyi bir çözünürlük özelliğine sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan önceki çalışmalar, maltodekstrin ve Arap zıkkı gibi karbonhidrat bazlı taşıyıcıların kullanımının çözünürlüğü artırdığını göstermektedir [164, 222].

Yığın yoğunluk ve sıkıştırılmış yığın yoğunluk, toz ürünün işleme, nakliye, depolama ve pazarlama süreçlerindeki performansını belirleyen temel özelliklerdir. Yapılan ölçümlere göre, optimum koşullardaki mikrokapsüllerin yığın yoğunluğu $260.47 \pm 6.47 \text{ kg/m}^3$ ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ise $380.13 \pm 9.51 \text{ kg/m}^3$ olarak ölçülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak, Jedlińska ve diğ., benzer bir teknoloji ile üretilen vanilya ve ahududu aroma tozlarının yığın (kütle) yoğunluğunun $290\text{--}390 \text{ kg/m}^3$ aralığında olduğunu, buna karşın sıkıştırılmış yığın yoğunluğunun $360\text{--}450 \text{ kg/m}^3$ aralığında olduğunu bulmuştur [223].

Bir toz parçacığının akışkanlığı, CI değeri ile belirlenir. Genel olarak, CI değeri 15'ten küçükse çok iyi, 15 ile 20 arasındaysa iyi, 20 ile 35 arasındaysa zayıf, 35 ile 45 arasındaysa kötü, 45 ve üzeriyse çok kötü olarak kabul edilir [224]. Tablo 4.29'da görüldüğü gibi, tozun CI değeri (31.48 ± 2.66), zayıf akışkanlığa sahip olduğunu göstermektedir.

Yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk, Carr indeksi ve çözünürlük gibi gıda tozlarının birçok temel kalite göstergesi, partikül boyutundan etkilenir. Parçacık boyutu ayrıca önem taşır, çünkü gıda matrislerinde elde edilen ve gıdanın dokusunu etkileyebilecek mikrokapsüllerin uygulanmasını yönlendirir.

Şekil 4.39'da, optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyut dağılımı sunulmuştur. Zeytin yaprağı ekstresi mikropartikülleri, Şekil 4.39'da görüldüğü gibi, her biri baskın bir boyutu temsil eden, biri diğerinden daha yüksek olan iki ayrı tepe noktasına sahip iki modlu bir dağılım sergilemiştir. Bu benzer davranış, daha küçük parçacıkların daha büyük olanlar arasındaki boşluklara nüfuz etmesi ve daha az alan kaplaması şeklinde önceki bir çalışmada da bildirilmiştir [225].



Şekil 4.39: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.

Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin partikül boyutu dağılımı d_{10} , d_{50} , d_{90} , $D_{[4,3]}$, $D_{[3,2]}$ ve açıklık değerleri ile belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla 4.30'da verilmiştir. Obon ve diğ., püskürtmeli kurutma yöntemiyle kurutulmuş *Opuntia stricta* meyve tozlarının partikül boyutunun 13 ile 21 μm arasında değiştiğini rapor etmişlerdir [226].

Tablo 4.29: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.

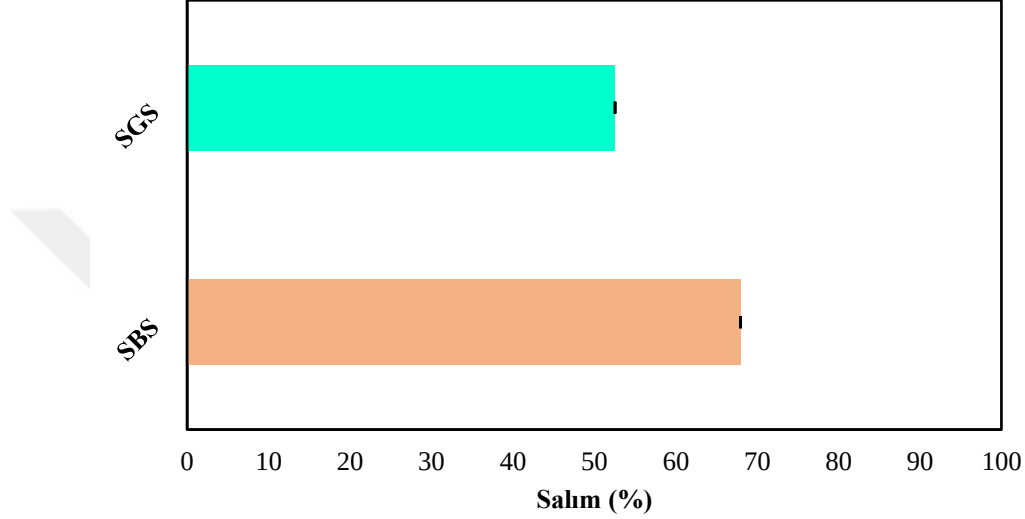
d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{[4,3]}$ (μm)	$D_{[3,2]}$ (μm)	Açıklık
2.99 ± 0.09	17.21 ± 0.01	33.14 ± 1.09	18.345 ± 0.03	5.302 ± 0.06	1.78 ± 0.00

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

SEM görüntüleri incelendiğinde, püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuş zeytin yaprağı ekstresi tozlarının genellikle küresel, düzgün ve homojen bir yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, homojen bir yapıya sahip olmalarına rağmen, düzensiz küresel şekilli mikrokapsüllerin yüzeyinde birçok büzülme ve çöküntü tespit edilmiştir. Bu gözlem, Li ve diğ. tarafından yapılan püskürtülerek kurutulmuş erik ekstraktı tozları için gözlemlenen şekle benzerlik göstermektedir [227].

4.2.1.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Tablo 4.39’da belirtilen optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında üretilen mikrokapsüllerin aktif bileşenlerinin salım davranışını belirlemek ve biyoyararlanımını değerlendirmek amacıyla *in vitro* gastrointestinal sistem kullanılmıştır. Şekil 4.40, optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında kapsüllenmiş matris içerisindeki toplam fenolik maddelerin sırasıyla SGS ve SBS ortamlarına salımını göstermektedir.



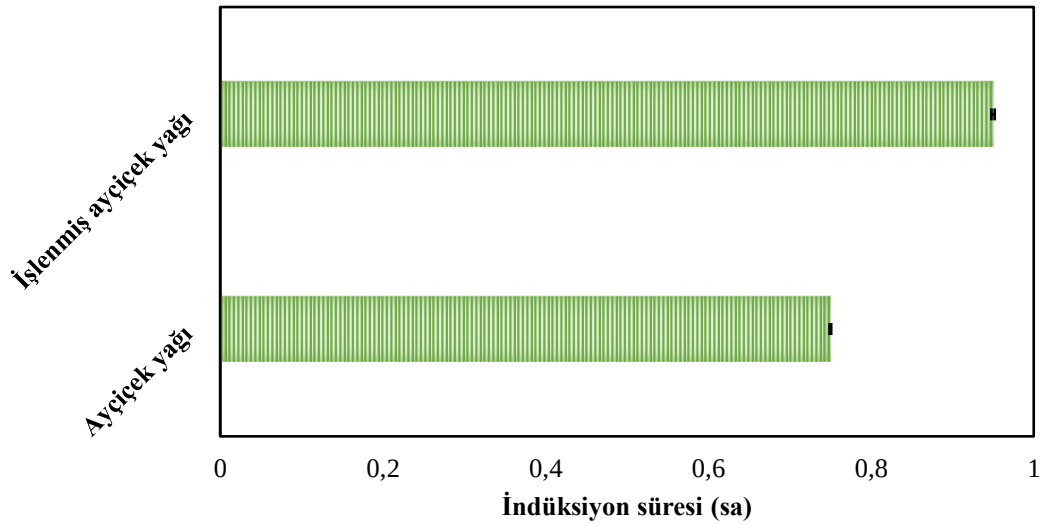
Şekil 4.40: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içerisine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Elde edilen mikrokapsüllerden toplam fenolik madde içeriğinin %52.55’i simüle gastrik sıvıda, %67.97’si ise simüle bağırsak sıvısında salınmıştır. Vulić ve diğ., kırmızı biber atıklarından elde edilen kapsüllenmiş fenoliklerin simüle edilmiş ince bağırsak sıvısında daha yüksek olduğunu rapor etmiştir [228]. Ayrıca Ydjedd ve diğ., keçiboynuzu özü ekstraktlarının kapsüllenmiş fenolik bileşiklerinin de bağırsak sıvısında daha fazla salınmış olduğunu belirtmiştir. [229]. Mide sıvısında gözlenen nispeten düşük fenolik bileşik salımı, kaplama maddesinin mide ortamına karşı koruyucu bir bariyer görevi gördüğünü gösterebilir. Bu durum, kaplama maddesinin düşük mide pH’ında düşük çözünürlük özelliklerine sahip olmasına ve mikrokapsüllerin daha yüksek bağırsak pH’ında yüksek ıslanabilirlik ve çözünürlük özelliklerine sahip olmasına bağlanabilir [203].

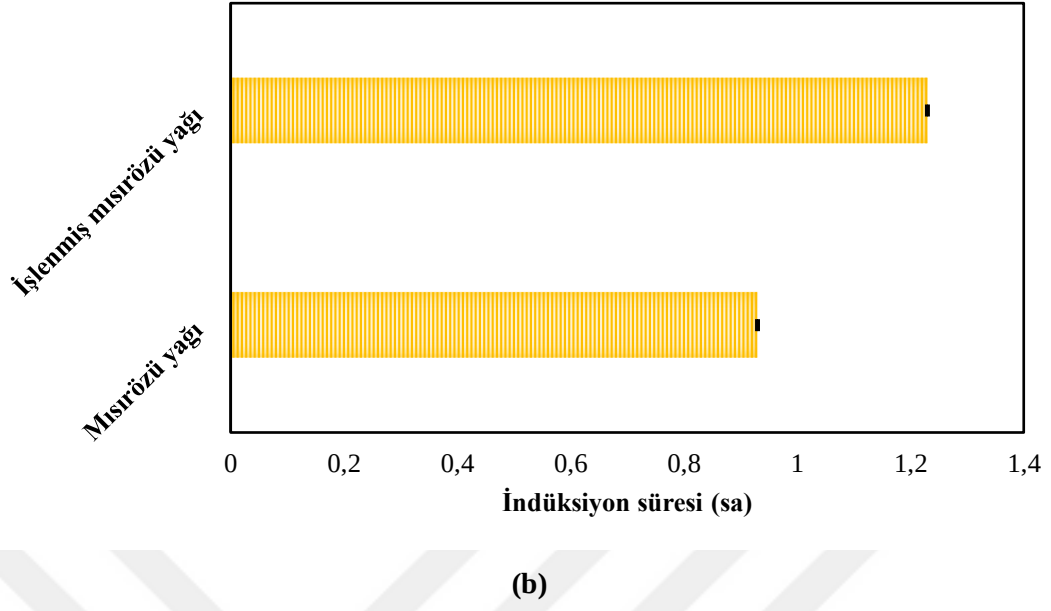
4.2.1.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitésinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin pratik bir gıda uygulaması açısından incelenmesi için model gıda ürünleri olarak ayçiçek yağı ve mısırözü yağı tercih edilmiştir. Çünkü bu yağlar, oksidasyona karşı stabilite özellikleri sayesinde en çok tüketilen ürünler arasında yer almakta ve kısa bir raf ömrüne sahip olmaları nedeniyle tüketiciler ve üreticiler tarafından tercih edilmektedir. Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen mikrokapsüller, model gıda ürünlerinde gıda katkı maddesi olarak incelenmiştir. Bu adımın amacı, mikrokapsüllerle işlenmiş ayçiçek yağı ve mısırözü yağının biyoaktif özellikleri ve oksidatif stabilite gibi kalite parametrelerini değerlendirmektir. Oksidatif stabilite, ürünün raf ömrünü belirleyen önemli bir faktördür. Bu sayede, sentetik uygulamalara alternatif olarak doğal kaynaklardan elde edilen katkı maddeleri kullanımıyla ürünlerin stabilitesinin artırılması hedeflenmektedir.

Şekil 4.41, sırasıyla işlenmiş ve işlenmemiş yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir. Çalışmanın sonuçlarına göre, ayçiçek yağındaki indüksiyon süresi %26.67 oranında artarken, mısırözü yağındaki indüksiyon süresi %32.26 oranında artmıştır. Bu bulgular, zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikropartiküller ile işlenmiş ayçiçek yağı ve mısırözü yağının oksidasyona karşı daha iyi bir stabilite gösterdiğini ortaya koymaktadır.



(a)



Şekil 4.41: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda zeytin yaprağı ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.31, saf yağ numunelerinin ve optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerle işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.30: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.039 ± 0.001	0.0154 ± 0.002
	İşlenmiş	0.079 ± 0.003	0.0470 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.036 ± 0.001	0.0441 ± 0.002
	İşlenmiş	0.126 ± 0.003	0.1345 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.31'den görüldüğü üzere, mikrokapsül katkısı sonucu yağ örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi kalite parametrelerinde de belirgin iyileşmeler gözlemlenmiştir. İşlenmiş ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri saf ayçiçek yağına kıyasla TFM açısından ~2 katına çıkarken, antioksidan aktivitesi açısından ise ~3 katına çıkmıştır. İşlenmiş mısırözü yağının fonksiyonel özellikleri ise saf mısırözü yağına göre TFM açısından 3.5 katına çıkarken, antioksidan aktivite açısından ise ~3 katına çıkmıştır.

Elde edilen sonuçlar, bitkisel yağlara zeytin yaprağı ekstraktı içeren mikrokapsüllerin eklenmesinin, oksidatif stabiliteyi arttırmanın yanında TFM içeriği ve antioksidan aktivitesini de artırdığını göstermektedir. Bu artışlar, yağların oksidasyona karşı daha dayanıklı hale gelmesine katkıda bulunabilir, bu da yağların besin değerlerini koruması ve bozulmasını önlemenin yanı sıra ürünlerin raf ömrünün uzamasına olanak sağlar. Sonuç olarak, tüketicilere daha uzun süre kaliteli ve besleyici gıda ürünleri sunma imkanı sağlar.

4.2.2. Hibiskus Ekstraktının Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu

4.2.2.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Önerilen kapsülleme işleminin performansı sırasıyla EE, KV, AA ve TA gibi bağımlı değişkenlerle ölçülmüştür. Tablo 4.32, hibiskus ekstraktının maltodekstrin, Arap zıncı veya maltodekstrin/Arap zıncı karışımları içinde kapsüllenmesi için kullanılan püskürtmeli kurutma sistemine ait deneysel tasarım planını göstermektedir. Tablo 4.32’de görüldüğü gibi faktörler sırasıyla 5 seviyeye sahiptir.

Tablo 4.31: Hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.

Deney No	A: Arap zıncı (%, w/v)	B: Maltodekstrin (%, w/v)	C: Giriş Sıcaklığı (°C)	EE (%)	KV (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)	TA (mg-C3G/g-KM)
1	2.5	7.5	145	76.83	63.29	5.338 ± 0.002	1.645 ± 0.002
2	5	5	160	73.98	60.18	5.653 ± 0.002	1.636 ± 0.003
3	2.5	7.5	130	78.66	62.87	4.948 ± 0.004	1.717 ± 0.003
4	7.5	2.5	145	78.49	59.82	5.357 ± 0.003	1.636 ± 0.004
5	5	5	190	68.01	76.92	5.778 ± 0.001	1.746 ± 0.001
6	10	0	130	80.17	58.53	5.629 ± 0.002	1.575 ± 0.001
7	0	10	160	77.79	77.23	6.097 ± 0.003	1.596 ± 0.004
8	0	10	190	78.50	79.25	5.695 ± 0.003	1.753 ± 0.005
9	2.5	7.5	175	74.44	70.62	5.896 ± 0.004	1.677 ± 0.006
10	5	5	130	81.61	64.60	4.274 ± 0.004	1.634 ± 0.005
11	7.5	2.5	175	70.74	67.86	5.996 ± 0.002	1.694 ± 0.003
12	10	0	190	64.69	85.44	5.768 ± 0.002	1.648 ± 0.003
13	10	0	160	78.60	68.53	6.282 ± 0.001	1.699 ± 0.002
14	0	10	160	80.06	76.81	5.865 ± 0.003	1.616 ± 0.001
15	10	0	160	77.18	67.56	6.365 ± 0.003	1.713 ± 0.001
16	5	5	190	67.13	77.55	6.093 ± 0.004	1.763 ± 0.004
17	5	5	160	74.97	61.13	5.808 ± 0.005	1.645 ± 0.004
18	0	10	130	69.94	62.74	6.292 ± 0.004	1.780 ± 0.003
19	5	5	160	74.77	60.17	5.617 ± 0.002	1.648 ± 0.001

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.32’den görüldüğü üzere, mevcut kapsülleme sistemi için EE değerleri %64.69 ile %81.61 arasında değişmektedir. Diğer yandan, aynı aktif malzemenin aynı duvar malzemesine kapsüllenmesi için %80.94 ile %88.48 arasında EE rapor edilmiştir [230]. Bulgular, mevcut

çalışmanın sonuçlarına kıyasla biraz daha yüksektir ve bu durum büyük olasılıkla, 110-150 °C arasında tutulan püskürtmeli kurutma prosesinin giriş sıcaklığından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, ekstrakt örnekleri su ve %20 sulu etanol (v/v) kullanılarak elde edilmiştir; bu da çalışma sonuçlarının farklılığını açıklayabilir.

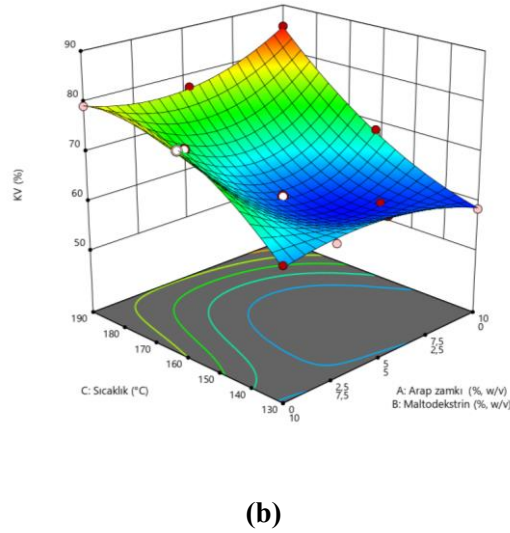
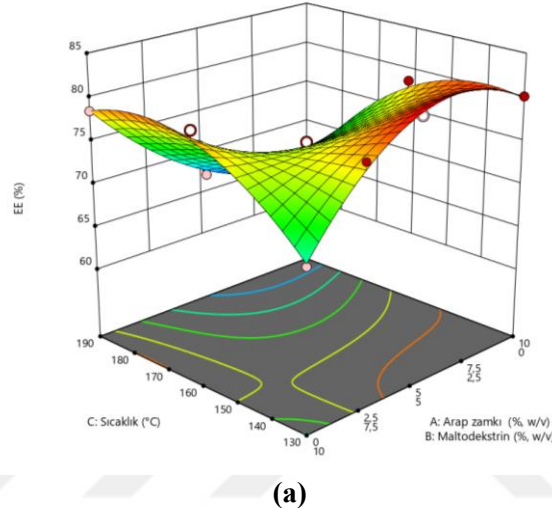
Mikroenkapsülasyon prosesinin KV'si, karışım bileşenlerine (A ve B) ve proses faktörüne (C) bağlı olarak %58.53 ile %85.44 arasında değişmektedir. Navidad-Murrieta ve diğ., hibiskus ekstraktının maltodekstrin/Arap zamkı karışımıyla püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu için benzer KV değerlerini (%61.88-%89.39) rapor etmiştir [231]. Younesi ve diğ., hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu için farklı duvar malzemeleri (maltodekstrin/modifiye maltodekstrin) kullanmışlardır [232]. Çalışmada gözlemlenen KV değerleri duvar malzemesine bağlı olarak değişmekte olup, bu değerler %63.86 ile %75.06 arasında yer almaktadır.

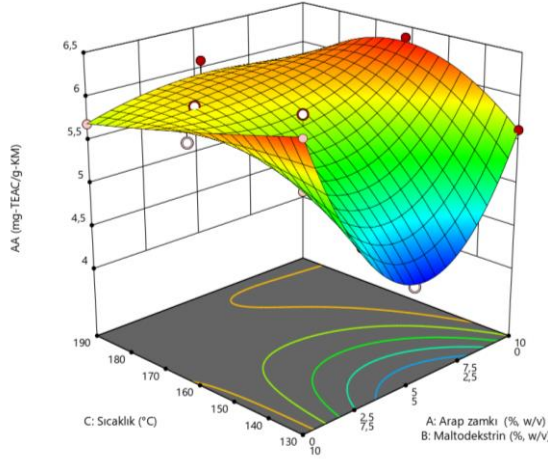
DPPH radikaline karşı antioksidan aktivite, gram kurutulmuş mikrokapsül başına 4.274 ile 6.365 mg trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) arasında değişmektedir. Nguyen ve diğ. (2022), hibiskus ekstraktı için püskürtmeli kurutmalı kapsülleme sistemini araştırmak amacıyla farklı duvar malzemeleri kullanmıştır [233]. Elde edilen antioksidan aktivite değerleri, bizim çalışmamızda kullanılan aynı test (DPPH) ile ölçülen değerlerden ~4 ile 5 kat daha yüksektir. Söz konusu çalışmada, 150 °C giriş sıcaklığı ve 91 °C çıkış sıcaklığı uygulanmıştır. Bu farklılık, taşıyıcının prosesin ısı işlemine karşı oksidatif stabilitesi ile açıklanabilir. Ayrıca, ısı işlem sırasında duvar malzemesi karışımlarının farklı oranları, fenolik hidrolize bağlı olarak antioksidan kalıntılarının oluşumuna yol açabilir.

Mikrokapsüllerin toplam antosiyanin değerleri, kurutulmuş mikrokapsül başına 1.575 ile 1.780 mg siyanidin-3-glukozit madde eşdeğeri (mg-C3G/g-KM) arasında değişmektedir. Archaina ve diğ., 180 °C giriş sıcaklığı ve 80 °C çıkış sıcaklığı altında Arap zamkı/maltodekstrin karışımında hibiskus ekstraktı yüklü mikropartiküller için benzer TA değerleri bildirmişlerdir [234]. Öte yandan, Ochoa-Velasco ve diğ., benzer bir TA belirleme yöntemini kullanarak meskit zamkındaki mikrokapsüllenmiş hibiskus ekstraktının TA değerlerini 3.00-3.43 mg-C3G/g-KM olarak bildirmiştir [230]. İlgili TA değerleri, bu çalışmanın neredeyse iki katıdır. Bunun için bitkinin kökeninin farklı olması, bitkinin farklı kısımlarının kullanılması ve duvar malzemesinin farklı olması gibi pek çok neden sıralanabilir.

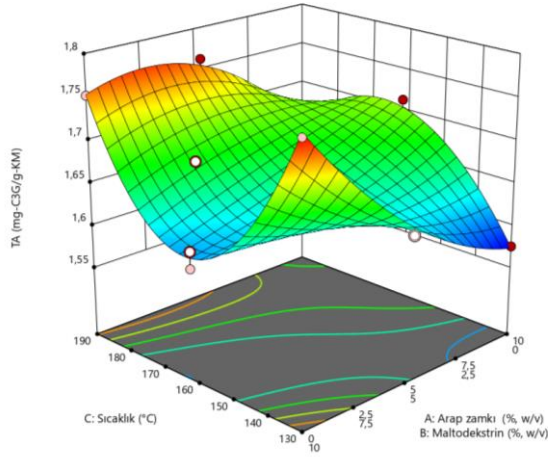
Karışım tasarımlarında proses parametrelerinin yanıtlar üzerindeki etkilerini görselleştirmek için temel grafik türleri olarak üç boyutlu yüzey grafikleri veya kontur grafikleri kullanılır. Bu grafikler, proses parametrelerinin yanıtlar üzerindeki etkilerini görsel olarak temsil etmektedir.

Şekil 4.42, hibiskus ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve proses faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkilerini göstermektedir.





(c)



(d)

Şekil 4.42: Hibiskus ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkileri.

Formülasyondaki Arap zamkı oranının arttırılması, EE'yi başlangıçta ~%12 oranında artırmıştır. Duvar malzemesi karışımındaki daha fazla Arap zamkı oranı artışı, 10 no'lu çalışmada görüldüğü gibi verimi ~%17 oranında artırmıştır. Idham ve diğ., hibiskus ekstraktının duvar malzemesi olarak maltodekstrin/Arap zamkı karışımı kullanılarak püskürtmeli kurutma yöntemiyle kapsüllenmesi sürecinde benzer gözlemler elde etmişlerdir [235]. Araştırmacılar, bu karışımın (maltodekstrin/Arap zamkı karışımının) saf maltodekstrin veya saf Arap zamkına kıyasla antosiyaninleri daha etkili bir şekilde kapsülleme potansiyeline sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu iki bileşenin oluşturduğu yapı, antosiyaninlerin duvardan kaçmasını önleyebilir. Ayrıca, fenolikler/flavonoller ile seçilen polisakkaritler arasında bazı kompleksler oluşmuş olabilir [235]. Benzer şekilde, Archaina ve diğ., hibiskus ekstraktının biyoaktif maddelerinin daha verimli bir şekilde mikrokapsüllenmesi için maltodekstrin ile Arap zamkının

birlikte kullanılmasını önermişlerdir [234]. Arap zamkının şeker zincirine bağlı az miktarda protein içeren yapısı, onu çok kaliteli bir film yapan bir madde haline getirerek ilgili kapsülden aktif maddelerin salınmasını kısıtlar [236]. Püskürtmeli kurutmanın giriş sıcaklığı dikkate alındığında, sıcaklığın artmasıyla birlikte EE_{TFM} değerinin de arttığı görülmektedir. 130 °C'den 190 °C'ye ~%12'lik bir artış gözlemlenmiştir (18 no'lu çalışmaya karşılık 8 no'lu çalışma). Ramírez ve diğ., maltodekstrin/Arap zamkı içeren meyve suyu için püskürtmeli kurutma işleminin giriş sıcaklığını süreç parametresi olarak kullanmış ve etkisini YYM ile araştırmışlardır [237]. Ayrıca, sıcaklığın artmasının kapsüllerin fenolik bileşenlerinde bozulmaya neden olmadığını bildirmişlerdir, bu durumun fenolik bileşiklerin termo-stabil yapılarına bağlanabileceğini belirtmişlerdir.

Şekil 4.42b'de görüldüğü gibi, püskürtmeli kurutma prosesinin kurutma verimliliği (KV) yanıt değişkeni için de aynı sıcaklık etkisi incelenmiştir. Giriş sıcaklığı, kurutma verimliliğini düzenli olarak artırmıştır. Bunun nedeni büyük ihtimalle yüksek sıcaklık değerlerinde ısı ve kütle transferinin artmasıdır. Bu durum, suyun daha hızlı uzaklaştırılmasına neden olarak parçacık kaybını önler ve parçacıkların cihazın kenarlarına yapışmasını önler [216]. Benzer şekilde, Sarabandi ve diğ., patlıcan kabuğu ekstraktının maltodekstrin/Arap zamkı içinde kapsüllemesi işlemi için aynı sıcaklık eğilimini rapor etmişlerdir [238]. Sabit bir giriş sıcaklığında (130 °C), duvar malzemesi karışımındaki Arap zamkı oranının artması, verimde son derece hafif bir artışa neden olmuştur. Tablo 4.32'de görüldüğü gibi, karışıma %2.5 (w/v) Arap zamkı ilave edildiğinde, KV %62.74'ten (18 no'lu çalışma) %62.87'ye (3 no'lu çalışma) değişmiştir. Formülasyondaki Arap zamkı oranının daha fazla artırılması durumunda (%5 (w/v) Arap zamkı, 10 nolu çalışma) KV %64.60'a yükselmiştir. Daha sonra, duvar malzemesi olarak Arap zamkının tek başına uygulandığı durumda, KV'nin azalmaya başladığı gözlemlenmiştir (6 no'lu çalışma) Yukarıda belirtildiği gibi, maltodekstrin ile Arap zamkının (özellikle eşit konsantrasyonlarda) birlikte kullanılması, kapsülleme işlemini desteklemiştir. González-Peña ve diğ., duvar malzemesi olarak eşit konsantrasyonlarda maltodekstrin ve Arap zamkının kullanılmasının, karotenoidin başarılı bir şekilde püskürtmeli kurutma yöntemiyle kapsüllemesini sağladığını belirtmişlerdir [239].

Şekil 4.42c, karışım bileşenlerinin ve giriş sıcaklığının, üretilen mikropartiküllerin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Duvar malzemesi üç boyutlu (3B) grafiklerde görüldüğü gibi oldukça etkilidir. Arap zamkı ve maltodekstrin eşit konsantrasyonlarda duvar malzemesi olarak kullanıldığında, en düşük antioksidan aktivitesi gözlemlenmiştir (10 nolu

çalışma). Aksine, antioksidan aktivite açısından en yüksek verim, bileşiklerin tek başına kullanılması durumunda elde edilmiştir. Tablo 4.32’de görüldüğü üzere, en iyi antioksidan aktivite değeri (6.29 mg-TEAC/g-KM), 130°C sıcaklık altında duvar malzemesi olarak saf maltodekstrin kullanılarak elde edilmiştir (18 no’lu çalışma). Kathiman ve diğ., mahkota dewa meyve ekstraktının aynı bileşenlerle (maltodekstrin ve Arap zımkı) püskürtmeli kurutma ile kapsüllenmesinde aynı karışım bileşeni etkisini ortaya koymuştur [240]. Antioksidan aktivitedeki azalmayı, iki bileşenin karışımının kapsül üzerinde bir kabuk tabakası oluşturarak parçacığın aktif maddesinin bozulmasına neden olmasıyla açıklamışlardır. Şekil 4.42c’den görüldüğü üzere, seçilen proses sıcaklığı aralığının ürünün antioksidan aktivitesinde önemli bir değişiklik yapmadığı görülmektedir. Yukarıda belirtildiği gibi, bu durum hibiskus ekstraktının biyoaktif bileşiklerinin termostabil yapısına bağlanabilir. Elde edilen ürünün antioksidan aktivitesi her zaman benzer değerlerde kalmıştır. Sıcaklığın belirli bir değerin üzerine çıkarılması, ürünün antioksidan aktivitesini etkilememiştir.

Şekil 4.42d, karışım bileşenlerinin ve giriş sıcaklığının, üretilen mikropartiküllerin TA üzerindeki etkilerini göstermektedir. TA verimi, Arap zımkı ilavesiyle düzenli olarak azalmıştır. Tablo 4.32’de görüldüğü üzere, en yüksek TA verimi 130 °C’de duvar malzemesi olarak tek başına maltodekstrin kullanıldığında elde edilmiştir (18 no’lu çalışma). Sarabandi ve diğ., patlıcan kabuğu ekstraktını 170°C giriş sıcaklığında aynı malzemelerle kapsüllemiştir. Ek olarak, benzer karışım bileşenlerinin biyoaktif içerik üzerindeki etkisini de incelemişlerdir [238]. En yüksek verim, duvar malzemesi olarak tek başına maltodekstrin kullanılması durumunda elde edilmiştir. Ayrıca, maltodekstrinin kısmen veya tamamen Arap zımkı ile değiştirilmesiyle verim azalmıştır. Kalušević ve diğ., antosiyanin açısından zengin siyah soya fasulyesi kabuğu ekstraktını sırasıyla Arap zımkı ve maltodekstrin içinde kapsüllemiştir [241]. Arap zımkı ile kapsüllenen partiküller, maltodekstrin ile kapsüllemiş olanlara göre daha düşük TA değeri vermiştir. Maltodekstrin geniş pH aralığına sahip solventlerde daha kolay çözünür, dolayısıyla bu malzemeye dayalı numunelerde daha etkili verim elde edilir. Şekil 4.42d’den görüldüğü üzere, sıcaklığın artması başlangıçta TA verimini azaltmıştır, ancak daha sonra sıcaklıkla birlikte TA veriminde bir artış gözlemlenmiştir. Tolun ve diğ., üzüm posası ekstraktının maltodekstrin/Arap zımkı duvar malzemesi karışımı ile kapsüllemesi sonucu elde edilen mikrokapsüllerin biyoaktif bileşikleri üzerinde benzer bir sıcaklık etkisi gözlemlenmiştir [151]. Püskürtmeli kurutma işleminin giriş sıcaklığının 120°C’den 160°C’ye çıkarılması, TFM verimini azaltmıştır. Bununla birlikte, giriş sıcaklığının 180°C’den sonra TFM verimini arttırdığı gözlemlenmiştir. Bu durum, sıcaklık arttıkça partikül etrafında daha güçlü bir film

tabakası olduğundan, bu tabakanın toplam fenolik madde miktarına en fazla katkıyı sağlayan biyoaktif antosiyaninlerin kaçışını engellediği şeklinde açıklanabilir [238].

4.2.2.2. *Modelleme Çalışması*

Karışım tasarımları, bir karışımında birden fazla bileşenin farklı oranlarda bulunması durumunda yeni formülasyonların geliştirilmesi dikkate alındığında mükemmel istatistiksel ve matematiksel araçlardır [242]. Bu nedenle bu çalışmada I-optimal yaklaşımı benimsenmiştir. Denklem (4.14)- (4.17)'de verilen modeller bağımlı değişkenler ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri oluşturmak amacıyla karışım tasarımlarının alt türü olan I-optimal tasarımı tarafından türetilmiştir.

$$EE = 77.81 A + 78.97 B - 15.55 AB - 7.61 AC + 4.13 BC - 21.57 ABC - 5.46 AC^2 - 4.57 BC^2 + 21.31 ABC^2 \quad (4.14)$$

$$KV = 68.07 A + 77.02 B - 48.04 AB + 13.28 AC + 8.55 BC - 16.94 ABC + 3.98 AC^2 - 6.22 BC^2 + 44.53 ABC^2 \quad (4.15)$$

$$AA = 6.31 A + 5.98 B - 1.89 AB + 0.0675 AC - 0.3022 BC + 3.73 ABC - 0.6225 AC^2 + 0.0232 BC^2 - 1.03 ABC^2 \quad (4.16)$$

$$TA = 1.70 A + 1.61 B - 0.0461 AB + 0.0369 AC - 0.0159 BC + 0.1802 ABC - 0.0938 AC^2 + 0.1607 BC^2 + 0.0837 ABC^2 \quad (4.17)$$

Bu denklemlerde, Arap zımkı konsantrasyonu (A, % w/v), B maltodekstrin konsantrasyonu (B, % w/v) ve püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı (C, °C) bağımsız değişkenleri, toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği (EE, %), kurutma verimliliği (KV, %) ve antioksidan aktivite (AA, mg-TEAC/g-KM), toplam antosiyanin (TA, mg-C3G/g-KM) ise bağımlı değişkenleri temsil etmektedir.

Model terimlerinin istatistiksel önemine Design Expert yazılımı tarafından varyans analizi aracılığıyla erişilir. Model teriminin p değerinin 0.05'ten küçük olması terimlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. 0.1'den büyük olması terimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını, yani modelden çıkarılmasının modeli iyileştireceğini gösterir.

Tablo 4.33, hibiskus ekstraktının ilgili duvar malzemelerinde püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu için türetilen ikinci dereceden modellerin istatistiksel bulgularını vermektedir.

Tablo 4.32: Hibiskus ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

	Kaynak	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
EE	Model	418.62	8	52.33	83.53	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	7.75	1	7.75	12.37	0.0056	
	AB	28.50	1	28.50	45.49	< 0.0001	
	AC	120.90	1	120.90	192.98	< 0.0001	
	BC	36.71	1	36.71	58.60	< 0.0001	
	ABC	53.37	1	53.37	85.19	< 0.0001	
	AC ²	30.33	1	30.33	48.41	< 0.0001	
	BC ²	21.79	1	21.79	34.79	0.0002	
	ABC ²	25.26	1	25.26	40.32	< 0.0001	
	Kalıntı	6.26	10	0.6265			
	Uyum Eksikliği	1.75	5	0.3509	0.3890	0.8383	önemsiz
	Saf Hata	4.51	5	0.9020			
	Kor Toplam	424.89	18				
	CV: %1.05	$R^2=0.9853$		$R_a^2=0.9735$		$R_t^2=0.8194$	
KV	Model	1177.15	8	147.14	367.77	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	28.75	1	28.75	71.87	< 0.0001	
	AB	271.82	1	271.82	679.38	< 0.0001	
	AC	368.31	1	368.31	920.55	< 0.0001	
	BC	157.07	1	157.07	392.58	< 0.0001	
	ABC	32.94	1	32.94	82.33	< 0.0001	
	AC ²	16.16	1	16.16	40.40	< 0.0001	
	BC ²	40.28	1	40.28	100.67	< 0.0001	
	ABC ²	110.31	1	110.31	275.71	< 0.0001	
	Kalıntı	4.00	10	0.4001			
	Uyum Eksikliği	2.63	5	0.5264	1.92	0.2452	önemsiz
	Saf Hata	1.37	5	0.2738			
	Kor Toplam	1181.16	18				
	CV: %0.93	$R^2=0.9966$		$R_a^2=0.9939$		$R_t^2=0.8886$	
AA	Model	4.36	8	0.5451	48.64	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.0319	1	0.0319	2.84	0.1227	
	AB	0.4222	1	0.4222	37.67	0.0001	
	AC	0.0095	1	0.0095	0.8479	0.3788	
	BC	0.1963	1	0.1963	17.51	0.0019	
	ABC	1.60	1	1.60	142.63	< 0.0001	
	AC ²	0.3947	1	0.3947	35.22	0.0001	
	BC ²	0.0006	1	0.0006	0.0501	0.8274	
	ABC ²	0.0585	1	0.0585	5.22	0.0454	
	Kalıntı	0.1121	10	0.0112			
	Uyum Eksikliği	0.0116	5	0.0023	0.1157	0.9832	önemsiz
	Saf Hata	0.1005	5	0.0201			
	Kor Toplam	4.47	18				
	CV: % 1.85	$R^2=0.9749$		$R_a^2=0.9549$		$R_t^2=0.8529$	

Tablo 4.33 (devamı): Hibiskus ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

TA	Model	0.0606	8	0.0076	79.29	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.0018	1	0.0018	18.33	0.0016	
	AB	0.0003	1	0.0003	2.62	0.1364	
	AC	0.0028	1	0.0028	29.82	0.0003	
	BC	0.0005	1	0.0005	5.72	0.0379	
	ABC	0.0037	1	0.0037	39.00	< 0.0001	
	AC ²	0.0090	1	0.0090	93.87	< 0.0001	
	BC ²	0.0269	1	0.0269	281.65	< 0.0001	
	ABC ²	0.0004	1	0.0004	4.08	0.0709	
	Kalıntı	0.0010	10	0.0001			
	Uyum Eksikliği	0.0004	5	0.0001	0.8699	0.5589	önemsiz
	Saf Hata	0.0005	5	0.0001			
	Kor Toplam	0.0615	18				
CV: % 0.58		$R^2=0.9845$		$R_a^2=0.9721$		$R_t^2=0.8076$	

Varyans analizi bulgularına göre, EE, KV, AA ve TA yanıtları için türetilen modeller istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, yanıtlar için lineer karışım terimleri de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, A, B, AB, AC, BC, ABC, AC², BC² ve ABC² model terimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Analiz sonuçlarına göre, ikinci yanıt değişkenini temsil eden kurutma verimliliği değeri için A, B, AB, AC, BC, ABC, AC², BC² ve ABC² model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Diğer yandan, üçüncü yanıt değişkenini temsil eden antioksidan aktivite değeri için A, B, AB, BC, ABC, AC² ve ABC² model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Dördüncü yanıt değişkenini temsil eden toplam antosiyanin değeri için ise A, B, AC, BC, ABC, AC², BC² model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Performansı incelemek için varyasyon katsayısı (CV) ve uyum eksikliği değerlerinin yanı sıra R değerleri de kullanılmıştır. Modelin performansını incelemek için determinasyon katsayısı, ayarlanmış determinasyon katsayısı ve tahmini determinasyon katsayısı kullanılmıştır. Öncelikle, R_a^2 ve R_t^2 dahil olmak üzere R^2 değerlerinin tümü tatmin edici (>0.80) bulunmuştur. Ayrıca, R_a^2 ile R_t^2 arasındaki farkın 0.2'den az olması, türetilmiş 4 model için istatistiksel doğruluğun yüksek olduğu anlamına gelmektedir. CV değerlerinin %10'dan düşük olması, deneysel verilerin güvenilirliğini göstermektedir. Son olarak uyumsuzluğun ölçüsü olarak uyum eksikliği değerinin 0.05'ten büyük olması arzu edilir [243]. Tablo 4.33'te görüldüğü gibi

0.05'den büyük olan uyum eksikliği değerleri, türetilen modellerin verilerle uyumlu olduğunu göstermektedir.

4.2.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Hibiskus ekstraktının maltodekstrin, Arap zıkkı veya maltodekstrin/Arap zıkkı karışımında püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu için maksimum EE, KV, AA ve TA değerleri elde etmek amacıyla bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.34'ten görüldüğü gibi, Design-Expert yazılımı, maksimum EE (%78.53), KV (%79.35), AA (5.703 mg-TEAC/g-KM) ve TA (1.754 mg-C3G/g-KM) elde etmek için en uygun koşulların 190 °C sıcaklıkta ve duvar malzemesi olarak sadece maltodekstrin kullanılması durumunda elde edilebileceğini göstermiştir. Optimum koşullar deneysel olarak doğrulanmış ve beklenen sonuçlar ile deneysel sonuçlar arasındaki fark kabul edilebilir düzeyde (< %2) bulunmuştur. Bu durum, modelin söz konusu sistemler için uygunluğunu doğrulamaktadır.

Tablo 4.33: Hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum toplam enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç	Deneysel Sonuç	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (°C)				
0.000	10.000	190.000	EE (%)	78.53	79.01	0.61
			KV (%)	79.35	79.24	0.52
			AA (mg-TEAC/g-KM)	5.703	5.690	0.23
			TA (mg-C3G/g-KM)	1.754	1.768	0.80

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2.2.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Toz örneklerinin nem içeriği, gıda depolama stabilitesi için kritik bir özelliktir ve amorf tozların akışkanlığını ve yapışkanlığını belirleyen camsı geçiş ve kristalleşme davranışında önemli bir rol oynamaktadır. Öte yandan, su aktivitesi toz örnekleri için başka bir önemli kriterdir ve püskürtmeli kurutulmuş ince tozların raf ömrünü göstermektedir. Genel olarak yüksek taşıyıcı malzeme konsantrasyonu, yüksek atomizasyon hızı ve yüksek giriş sıcaklığı püskürtmeli kurutma sırasında nem içeriğini azaltırken, yüksek besleme hızı nem içeriğini artırır.

Optimum koşullar altında üretilen püskürtmeli kurutulmuş tozun nem ve su aktivitesi değerleri sırasıyla 4.37 ± 0.17 ve 0.23 ± 0.01 olarak ölçülmüştür (Tablo 4.35). Püskürtterek kurutulan numunelerde depolama stabilitesine etkisinin yanı sıra, mikrobiyal ve kimyasal reaksiyon güvenlikleri açısından nem içeriği ve su aktivite değerlerinin sırasıyla %5 ve 0.3'ün altında olması gerektiği rapor edilmiş ve elde edilen sonuçlar belirtilen değerlerle uyumlu bulunmuştur.

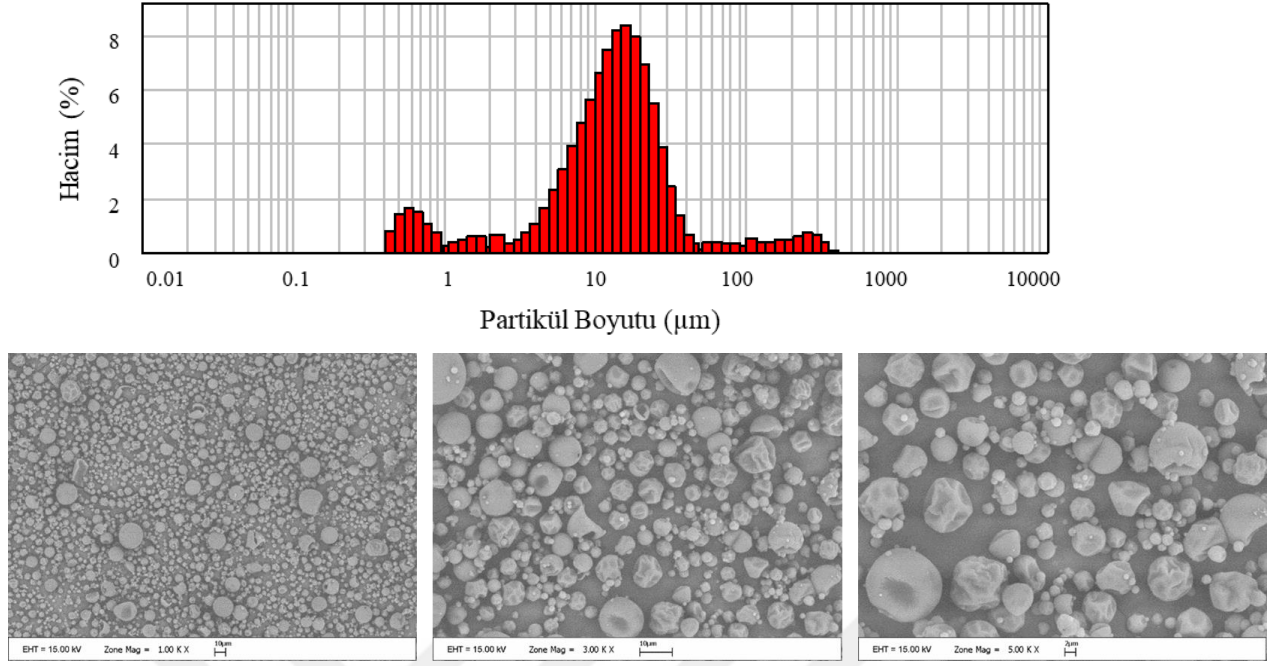
Tablo 4.34: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.

Nem (%)	Su Aktivitesi	Çözünürlük (%)	Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Carr indeksi (%)
4.37 ± 0.17	0.23 ± 0.01	97.00 ± 1.04	253.52 ± 4.41	339.40 ± 7.17	25.30 ± 1.34

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Püskürtmeli kurutma ürünlerinin işleme koşulları, nihai ürünün özellikleri üzerinde önemli bir rol oynar. Çözünürlük, suda çözünebilen tozların mikro yapısıyla doğrudan ilişkilidir. Genel olarak, çözünürlüğün %90'ın üzerinde olması beklenir [244]. Elde edilen örneklerin çözünürlük değeri de oldukça yüksek olup 97.00 ± 1.04 olarak bulunmuştur. Püskürtme kurutma yöntemi ile elde edilen hızlı çözünür (instant) tozlarda, çözünürlük nar suyu tozu için %95 [245], mango için %75 [244] ve *Hibiscus sabdariffa* için %95 olarak belirlenmiştir [246]. Bu sonuçlar, elde edilen çözünebilir tozların farklı gıda ürünlerine işlenebilirliğinde çok önemli bir faktör olarak görülmektedir. Bu faktörler, özellikle kullanılan taşıyıcı malzemeden etkilenirler. Tozun başka bir kalite özelliği olarak ölçülen yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ve CI değerleri sırasıyla 339.40 ± 7.17 kg/m³, 253.52 ± 4.41 kg/m³ ve 25.30 ± 1.34 olarak bulunmuştur. Toz ürünlerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunlukları kullanılarak Carr (1965) tarafından belirlenen CI değerleri; CI değeri 15'ten küçükse akışkanlık çok iyi, 15-20 arası iyi, 20-35 arası zayıf, 35-45 arası kötü, 45'in üstü ise çok zayıf olarak tanımlanır [224]. Elde edilen sonuçlar, daha önce yapılan benzer püskürtmeli kurutma çalışmaları ile uyumludur ve kavun çekirdeklerindeki yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk ve CI değerleri sırasıyla 360 kg/m³, 740 kg/m³ ve %50.44 olarak rapor edilmiştir [247].

Şekil 4.43'te, optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı sunulmuştur.



Şekil 4.43: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen tozların partikül boyut dağılımı, d_{10} , d_{50} , d_{90} değerlerinin yanı sıra $D_{[4,3]}$, $D_{[3,2]}$ ve açıklık değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla Tablo 4.36’da verilmiştir.

Tablo 4.35: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.

d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{[4,3]}$ (μm)	$D_{[3,2]}$ (μm)	Açıklık
2.20 ± 0.57	13.49 ± 0.09	30.41 ± 1.14	21.75 ± 0.89	4.716 ± 0.04	2.09 ± 0.07

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

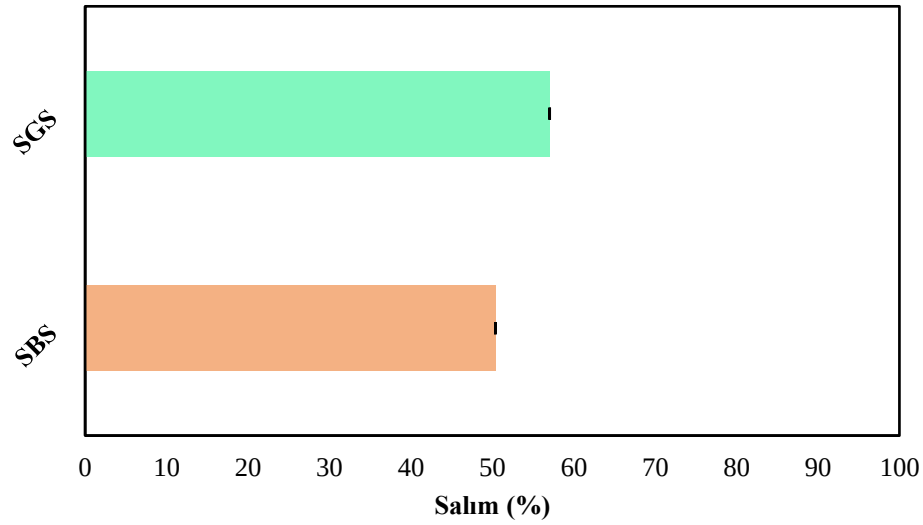
Avokado posasının püskürtülerek kurutulduğu bir çalışmada, d_{10} , d_{50} , d_{90} ve açıklık değerleri çalışmaya uygun olarak belirlenmiştir. Yazarlar, d_{10} , d_{50} , d_{90} ve açıklık değerlerinin sırasıyla 26 μm ile 37 μm , 63 μm ile 79 μm , 207 μm ile 256 μm ve 2.79 ile 2.85 arasında değiştiğini bildirmişlerdir [248]. Püskürtmeli kurutma yönteminde taşıyıcı malzeme olarak maltodekstrinin kullanıldığı bir çalışmada, yüksek giriş sıcaklığı ve yüksek maltodekstrin konsantrasyonunun püskürtmeli kurutma işleminde viskoziteyi etkileyerek partikül boyutunun artmasına neden olduğu rapor edilmiştir [243].

Şekil 4.43’te verilen SEM görüntüleri incelediğinde, optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüller, daha önce yapılan püskürtmeli kurutma çalışmalarında elde edilen toz

numunelerle uyumlu olarak küresel formda elde edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüller küresel, pürüzsüz ve oldukça düzenli bir şekle sahipti. Jafari ve diğ., püskürtmeli kurutma yönteminde kullanılan maltodekstrin seviyesinin elde edilen kapsüllerde yüzeyin büzülmesine ve çökmesine neden olabileceğini belirtmiştir [245].

4.2.2.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Tablo 4.34’te belirtilen optimum püskürtme kurutma koşullarında üretilen mikropartiküller, biyoaktif bileşenlerinin biyoyararlanımını değerlendirmek ve salım davranışını belirlemek amacıyla *in vitro* simüle edilmiş sindirim sistemlerine de tabi tutulmuştur. Şekil 4.44, optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında kapsüllenmiş hibiskus ekstraktından TFM’nin iki simüle edilmiş sistemde (SGS ve SBS) çözünmesini göstermektedir.



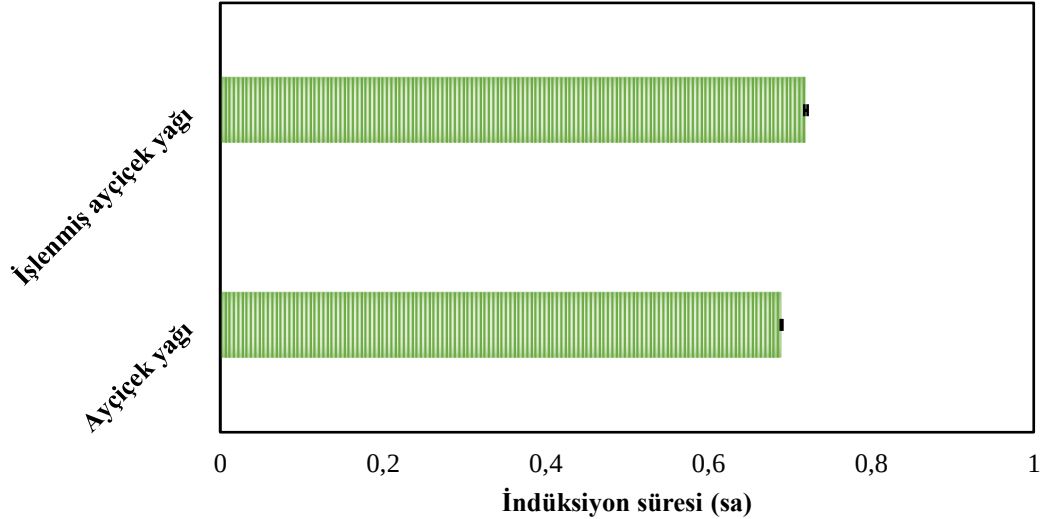
Şekil 4.44: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında hibiskus ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içerisine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Partiküller, karışım tasarım yöntemine bağlı olarak optimum koşullarda (sadece maltodekstrin varlığında ve 190 °C’de) üretilmiştir. Bu koşullarda üretilen mikrokapsüllerden TFM içeriğinin %57.05’si simüle edilmiş gastrik sıvıda, daha sonra %50.38’i simüle edilmiş bağırsak sıvısında salınmıştır. Salım çalışmasındaki benzer eğilim, Bernal-Millán ve diğ. (2022) tarafından kekik ekstraktını maltodekstrin içinde kapsülleme üzerine yaptıkları bir çalışmada da ortaya konmuştur [249]. Bu çalışma kapsamında, SGS ve SBS’de sırasıyla TFM salımı %91.38 ve %85.05 olarak incelenmiştir. *Stevia rebaudiana* ekstraktı mikrokapsüllerinin fenolik bileşikler de aljinat boncuklarından benzer bir salım davranışı göstermiştir [250]. Ayrıca, limon balsamı

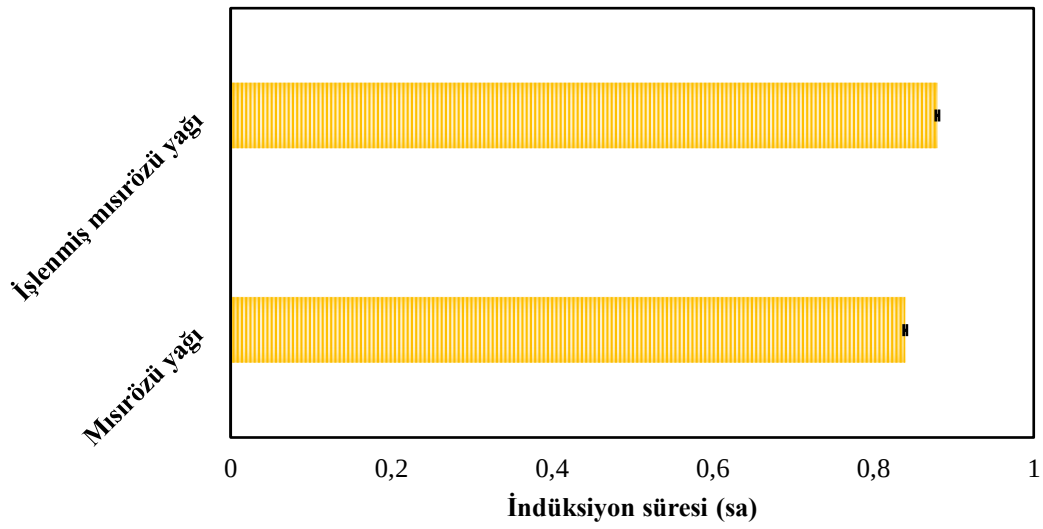
ekstraktının sırasıyla aljinat boncuklardan ve kitosan kaplı aljinat boncuklardan SGS'ye daha yüksek oranda salındığı belirlenmiştir [169]. Duvar malzemesinin salım davranışını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, *Averrhoa carambola* posası ekstraktının maltodekstrin içinde püskürtülerek kurutulmuş ve dondurarak kurutulmuş örnekleri, pH 1.2'ye sahip SGS'de pH 6.8'e sahip SBS'ye göre daha fazla salım göstermiştir [251].

4.2.2.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Şu ana kadar elde edilen bulgular, üretilen mikrokapsüllerin fonksiyonel gıdaların tasarımında katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu bağlamda yağ içeren gıdaların lipid oksidasyonuna karşı direncini arttırmak için antioksidatif özelliklere sahip bu biyoaktif partiküllerin kullanılması kaçınılmazdır. Çalışma kapsamında model gıda ürünü olarak çok fazla tüketilen ancak lipid oksidasyonuna karşı direncinin düşük olması nedeniyle raf ömrü nispeten kısa olan iki bitkisel yağ (ayçiçek yağı ve mısırözü yağı) seçilmiştir. Şekil 4.45, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkılı) yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 4.45: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda hibiskus ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Her iki yağ örneğinde de benzer artışlar gözlenmiştir. Her iki ürün de lipid oksidasyonuna karşı dirençte yaklaşık %5 oranında bir artış göstermiştir (Şekil 4.45a ve Şekil 4.45b). Tablo 4.37, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve mikropartiküller ile işlenmiş numunelerinin toplam fenolik madde (TFM) içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.36: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.041 ± 0.001	0.0410 ± 0.002
	İşlenmiş	0.072 ± 0.003	0.0813 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.036 ± 0.001	0.0441 ± 0.002
	İşlenmiş	0.084 ± 0.002	0.0701 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.37'den elde edilen sonuçlar, bitkisel yağlara hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin eklenmesinin, yağ örneklerinin biyoaktif içeriği açısından fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. İşlenmiş ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri saf ayçiçek yağına göre TFM açısından %75.61 oranında artarken, aynı numunenin antioksidan aktivitesi %98.12 oranında artmıştır. Ayrıca, hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin eklenmesiyle mısırözü yağının TFM içeriği 2.33 katına çıkmıştır. Benzer şekilde, aynı mikrokapsüller mısırözü yağının antioksidan aktivite değerini de %58.96 oranında artırmıştır.

Bu sonuçlar, bitkisel yağlara hibiskus ekstraktı içeren mikrokapsüllerin eklenmesinin yağların oksidatif stabilitesini arttırmanın yanı sıra TFM içeriğini ve antioksidan aktivitesini de arttırdığını göstermiştir.

4.2.3. Kuşburnu Çekirdeği Ekstraktının Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu

4.2.3.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Karışım tasarımı, karışımları (taşıyıcı malzemelerin karışımlarını) içeren sistemlere daha uygun olduğundan istatistiksel deneysel tasarım ve optimizasyon için kullanılmıştır [139]. Kapsülleme işleminin başarısı, EE, KV ve AA gibi bağımlı değişkenler kullanılarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.38, kuşburnu çekirdeği polifenollerinin Arap zamkı, maltodekstrin ve bunların karışımı ile yapılan püskürtmeli kurutma işlemi sonucunda elde edilen mikrokapsüllerin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite sonuçlarını içeren deney tasarım matrisini sunmaktadır. I-optimal tasarımı, Arap zamkı ve maltodekstrin gibi 2 farklı karışım bileşeni ile birlikte giriş sıcaklığı gibi bir proses parametresini değerlendiren toplamda 19 deneysel çalışmadan oluşmaktadır.

Tablo 4.37: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.

Deney No	A: Arap zımkı (%, w/v)	B: Maltodekstrin (%, w/v)	C: Giriş Sıcaklığı (°C)	EE (%)	KV (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)
1	2.5	7.5	145	73.49	61.95	3.81 ± 0.003
2	5	5	160	72.70	61.06	3.91 ± 0.005
3	2.5	7.5	130	79.83	62.71	3.72 ± 0.001
4	7.5	2.5	145	74.92	60.01	4.03 ± 0.002
5	5	5	190	77.52	53.57	3.76 ± 0.002
6	10	0	130	66.77	56.69	4.21 ± 0.004
7	0	10	160	75.95	62.27	3.88 ± 0.001
8	0	10	190	66.08	65.10	3.85 ± 0.002
9	2.5	7.5	175	72.05	59.58	3.85 ± 0.003
10	5	5	130	79.81	54.51	3.75 ± 0.003
11	7.5	2.5	175	77.43	60.74	4.03 ± 0.002
12	10	0	190	71.25	58.31	4.07 ± 0.004
13	10	0	160	84.49	63.66	4.18 ± 0.005
14	0	10	160	74.43	62.63	3.82 ± 0.006
15	10	0	160	83.81	63.99	4.18 ± 0.002
16	5	5	190	80.38	54.75	3.86 ± 0.006
17	5	5	160	73.39	61.53	3.94 ± 0.002
18	0	10	130	78.06	73.67	3.80 ± 0.003
19	5	5	160	74.92	60.83	3.93 ± 0.005

*Veriler 3 tekrarin aritmetik ortalamasi olarak verilmiştir.

Maltodekstrin, düşük viskozitesi, renksiz görünümü, suda yüksek çözünürlüğü ve düşük şeker içeriği gibi avantajlı özelliklerinden dolayı kapsülleme sistemlerinde popüler bir kaplama malzemesidir [215]. Arap zımkı ise renksiz olması, yüksek çözünürlüğe sahip olması, biyoyumlu olması ve optimum viskozitesi nedeniyle tercih edilen bir diğer kaplama maddesidir [238]. Bazı çalışmalar, bu iki bileşenin tek başına kullanılması yerine harmanlanmasının, çekirdekteki aktif bileşenleri korumak için daha iyi formülasyonlar sağladığını bildirmiştir [213, 215, 238, 252].

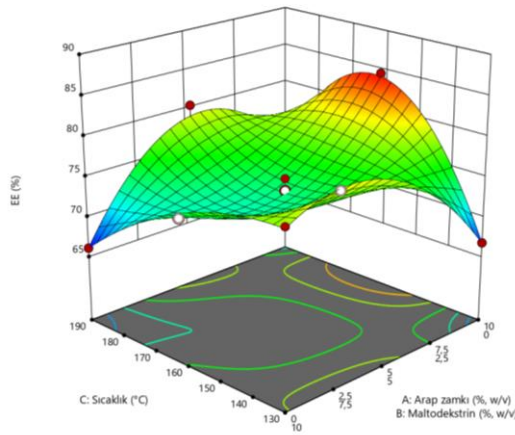
Tablo 4.38'den görüldüğü üzere, mevcut kapsülleme sistemi için EE değerleri %66.08 (8 no'lu çalışma) ile %84.49 (13 no'lu çalışma) arasında değişmektedir. En yüksek giriş sıcaklığı (190°C) ve saf maltodekstrin, en düşük EE verimini sağlamıştır (8 no'lu çalışma). Dolayısıyla, kaplama malzemesinin prosesi önemli ölçüde etkilediği sonucuna varabiliriz. Ştürn ve diğ., Arap zımkının tek başına, maltodekstrin ve Arap zımkı/maltodekstrin karışımına kıyasla

propolis ekstraktının kapsüllenmesi için en iyi performansı gösterdiğini, bu durumun Arap zamkının yapısındaki glikoprotein fraksiyonundan kaynaklandığını bildirmiştir [253].

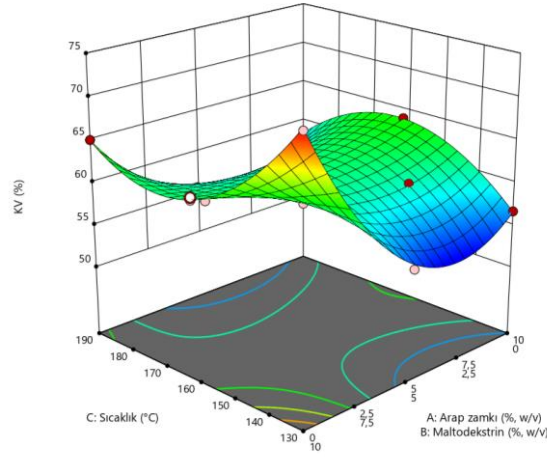
Tablo 4.38'den görüldüğü üzere, püskürtmeli kurutma işleminin KV değeri, koşullara bağlı olarak %53.57 (5 no'lu çalışma) ile %73.67 (18 no'lu çalışma) arasında değişmektedir. EE'ye benzer şekilde, giriş sıcaklığının KV üzerinde de olumsuz bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

DPPH radikaline karşı antioksidan aktivite değerleri ise 3.72 mg-TEAC/g-KM (3 no'lu çalışma) ile 4.21 mg-TEAC/g-KM (6 no'lu çalışma) arasında değişmektedir. EE'ye benzer şekilde, sadece Arap zamkının kullanıldığı durumda en yüksek antioksidan veriminin elde edildiği gözlemlenmiştir. Bu durum, hidrofilik bir zamk olan Arap zamkının iyi film oluşturma özellikleriyle açıklanabilir; bu özellik, antioksidanların kapsül kabuğundan salınmasını önler [254]. Ayrıca, Arap zamkının polifenollerin kapsül içinde tutulmasını sağlamak için daha iyi bir morfoloji sağladığı öne sürülmüştür [255].

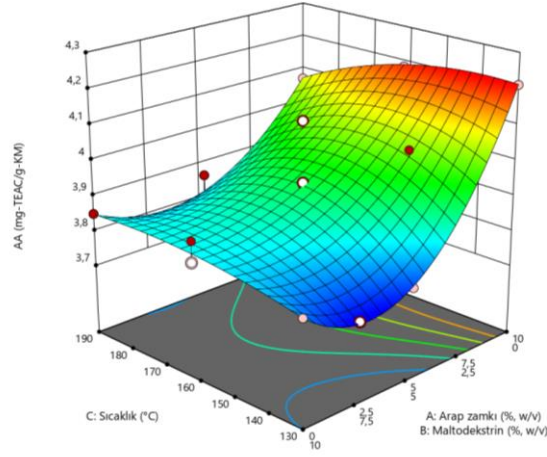
Şekil 4.46, kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamk ve maltodekstrin) ve proses faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği ve (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.46: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri.

Tablo 4.38’den görüldüğü üzere, en yüksek EE verimi (%84.49) orta sıcaklıkta (160 °C) sadece Arap zamkının kullanıldığı koşulda gözlemlenmiştir. Arap zamkı ve maltodekstrin karışımının, yüksek ısı koşullarında (190 °C) dahi yüksek EE verimi (>%75) sağladığı gözlemlenmiştir. Arap zamkı ve maltodekstrin karışımının, polifenollerin kapsüllerden kaçmasını engellemek için güçlü bir matris oluşturabileceği düşünülmektedir. Benzer gözlemler, Noghabi ve diğ. [256], Felix ve diğ. [257], Mahdavi ve diğ. [215], ve González-Peña ve diğ. [239] tarafından da rapor edilmiştir.

Giriş sıcaklığının etkisi dikkate alındığında, Şekil 4.46a’da başlangıçta EE veriminde bir artış görülürken, daha sonra verimde azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde, Tan ve diğ., 130 °C’den

140 °C'ye EE veriminde bir artış olduğunu bildirmiştir [213]. Bu artışın ardından verimde bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu bulguyu camsı geçiş sıcaklığı ve mikropartikülün sıcaklık değerleriyle açıklamışlardır. Mikropartikülün sıcaklığı, camsı geçiş sıcaklığından daha hızlı yükseldiğinde yapışkanlık meydana gelir. Bu durum, mikroenkapsülasyon etkinliğinde bir azalmaya yol açmaktadır. Nambiar ve diğ., taze hindistan cevizi suyunun mikroenkapsülasyonu üzerinde benzer bir giriş sıcaklığı etkisinin olduğunu rapor etmiştir [258].

Şekil 4.46b, karışım bileşenlerine ve giriş sıcaklığına bağlı olarak KV değişimini göstermektedir. En yüksek KV, duvar malzemesi olarak tek başına maltodekstrin kullanıldığında gözlemlenmiştir (18 no'lu çalışma). Sarabandi ve diğ., patlıcan kabuğu ekstraktını aynı malzemelerle 170 °C giriş sıcaklığında kapsüllemişlerdir. Ayrıca, benzer karışım bileşenlerinin etkisini de incelemişlerdir [238]. Maltodekstrinin kısmen veya tamamen Arap zıkkı ile değiştirilmesi sonucunda verimin azaldığını bildirmişlerdir. Özellikle geniş bir pH aralığına sahip solventlerde maltodekstrin daha kolay çözünme eğilimindedir. Bu nedenle, maltodekstrin içeren numunelerde genellikle daha etkili bir verim elde edilir [241]. Şekil 4.46b'den görüldüğü üzere, yüksek giriş sıcaklıkları kurutma verimliliğinde artışa neden olmuştur, bu da sıcaklığın kurutma verimliliğini desteklediğini göstermektedir. Yüksek kurutma sıcaklıkları, hızlı kuruma hızına bağlı olarak daha yüksek bir kurutma verimliliği elde edilmesini sağlamaktadır. Bu durum, artan ısı ve kütle transferi ile sonuçlanmaktadır. Ilıman koşullarda, yüksek nem içeren yapışkan ürünler oluşmaktadır [259].

Şekil 4.46c, karışım bileşenlerinin ve giriş sıcaklığının, üretilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Şekil 4.46c'de, giriş sıcaklığının antioksidan aktivite üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı, ancak sıcaklık artışıyla birlikte hafif bir antioksidan aktivite artışının olduğu gözlemlenmiştir. DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan aktivite değerine ilişkin benzer gözlem, Nambiar ve diğ. tarafından da rapor edilmiştir [258]. Ayrıca, polifenoller açısından enkapsülasyon etkinliğinin ve antioksidan aktivitesinin sıcaklığa karşı farklı tepki verdiğini gözlemlenmişlerdir. Bu durum, antioksidan kapasitesinin polifenollerden ziyade çeşitli biyoaktif malzemeleri (asitler, aromatik bileşikler, aldehytler ve esterler) içermesiyle açıklanabilir. Şekil 4.46c'de dikkat çeken bir diğer nokta, biyopolimer çözeltisindeki Arap zıkkı oranının antioksidan aktiviteyi keskin bir şekilde arttırmasıdır. Bu durum, Arap zıkkının kendi potansiyel aktivitesinin, mikrokapsüllerin antioksidan kapasitesine katkıda bulunmasıyla açıklanabilir [260].

4.2.3.2. Modelleme Çalışması

Kuşburnu çekirdeği polifenollerinin püskürtmeli kurutma yoluyla mikroenkapsülasyonu için optimum koşulları belirlemek amacıyla, Arap zamk ve maltodekstrin gibi iki kaplama malzemesi ve giriş sıcaklığı gibi bir proses faktörü kullanılarak I-optimal yaklaşımı uygulanmıştır. Denklem (4.18)-(4.20), Design-Expert yazılımının I-optimal tasarımı ile elde edilen modellerdir.

$$EE = 84.07A + 74.98 B - 25.71 AB + 2.28 AC - 5.88 BC + 7.23 ABC - 15.07 AC^2 - 3.02 BC^2 + 59.72 ABC^2 \quad (4.18)$$

$$KV = 63.94 A + 62.37 B - 7.79 AB + 0.8812 AC - 4.45 BC + 5.28 ABC - 6.45 AC^2 + 7.12 BC^2 - 27.64 ABC^2 \quad (4.19)$$

$$AA = 4.19 A + 3.85 B - 0.3514 AB - 0.0705 AC + 0.0256 BC + 0.2005 AB - 0.0473AC^2 - 0.0251 BC^2 - 0.4329 ABC^2 \quad (4.20)$$

Bu denklemlerde, polimer çözeltisindeki Arap zamk konsantrasyonu (A, % w/v), B polimer çözeltisindeki maltodekstrin konsantrasyonu (B, % w/v) ve püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı (C, °C) mevcut kapsülleme sisteminin bağımsız değişkenlerini temsil etmektedir. Buna karşılık, toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği (EE, %), kurutma verimliliği (KV, %) ve antioksidan aktivite (AA, mg-TEAC/g-KM) ise bağımlı değişkenleri temsil etmektedir.

Tablo 4.39, kuşburnu çekirdeği ekstraktının maltodekstrin, Arap zamk veya maltodekstrin/Arap zamk karışımında püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu için sırasıyla EE, KV ve AA değerlerine yönelik ANOVA test sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.38: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

	Kaynak	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
EE	Model	424.74	8	53.09	39.49	< 0.0001	önemli
	^① Lineer Karışım	18.65	1	18.65	13.87	0.0039	
	AB	77.87	1	77.87	57.92	< 0.0001	
	AC	10.85	1	10.85	8.07	0.0175	
	BC	74.19	1	74.19	55.18	< 0.0001	
	ABC	6.00	1	6.00	4.46	0.0608	
	AC ²	231.41	1	231.41	172.12	< 0.0001	
	BC ²	9.51	1	9.51	7.08	0.0239	
	ABC ²	198.40	1	198.40	147.56	< 0.0001	
	Kalıntı	13.44	10	1.34			
	Uyum Eksikliği	5.37	5	1.07	0.6649	0.6674	önemsiz
	Saf Hata	8.08	5	1.62			
	Kor Toplam	438.18	18				
	CV: %1.53	R ² =0.9693		R ² _a =0.9448		R ² _t =0.8975	
KV	Model	364.47	8	45.56	186.32	< 0.0001	önemli
	^① Lineer Karışım	53.87	1	53.87	220.32	< 0.0001	
	AB	7.14	1	7.14	29.21	0.0003	
	AC	1.62	1	1.62	6.63	0.0277	
	BC	42.54	1	42.54	173.96	< 0.0001	
	ABC	3.19	1	3.19	13.06	0.0047	
	AC ²	42.35	1	42.35	173.19	< 0.0001	
	BC ²	52.84	1	52.84	216.11	< 0.0001	
	ABC ²	42.50	1	42.50	173.82	< 0.0001	
	Kalıntı	2.45	10	0.2445			
	Uyum Eksikliği	1.37	5	0.2746	1.28	0.3963	önemsiz
	Saf Hata	1.07	5	0.2144			
	Kor Toplam	366.92	18				
	CV: % 0.8117	R ² =0.9933		R ² _a =0.9880		R ² _t =0.9014	
AA	Model	0.4034	8	0.0504	61.04	< 0.0001	önemli
	^① Lineer Karışım	0.2756	1	0.2756	333.66	< 0.0001	
	AB	0.0145	1	0.0145	17.60	0.0018	
	AC	0.0104	1	0.0104	12.55	0.0053	
	BC	0.0014	1	0.0014	1.70	0.2215	
	ABC	0.0046	1	0.0046	5.59	0.0397	
	AC ²	0.0023	1	0.0023	2.76	0.1279	
	BC ²	0.0007	1	0.0007	0.7939	0.3939	
	ABC ²	0.0104	1	0.0104	12.62	0.0052	
	Kalıntı	0.0083	10	0.0008			
	Uyum Eksikliği	0.0013	5	0.0003	0.1848	0.9563	önemsiz
	Saf Hata	0.0070	5	0.0014			
	Kor Toplam	0.4117	18				
	CV: % 0.7320	R ² =0.9799		R ² _a =0.9639		R ² _t =0.9034	

ANOVA analizi sonuçlarına göre, üç farklı yanıt değişkeni için üretilen modeller istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.0001). Bu bulgu, oluşturulan modellerin verileri etkili bir şekilde açıkladığını ve tahminlerin güvenilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bağımsız değişkenlerin yanıt değişkenlerindeki değişikliği açıklamak için yeterli bilgi sağladığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, her üç yanıt değişkeni için lineer karışım terimleri de istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur ($p<0.05$). I-optimal tasarimda, bir lineer karışım modelinin p değerinin 0.05'ten küçük olması, karışım bileşenlerinin modelde istatistiksel olarak anlamli olduğunu gösterir.

Enkapsülasyon etkinliği yanıt değişkeni için yapılan analiz sonuçlarına göre, A, B, AB, AC, BC, AC^2 , BC^2 ve ABC^2 model terimleri istatistiksel olarak anlamli bulunmuştur ($p<0.05$). Kurutma verimliliği değerini temsil eden ikinci yanıt değişkeni için yapılan analizlerde A, B, AB, AC, BC, ABC, AC^2 , BC^2 ve ABC^2 model terimlerinin istatistiksel olarak anlamli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Antioksidan aktivite değerini temsil eden üçüncü yanıt değişkeni için ise A, B, AB, AC, ABC ve ABC^2 model terimlerinin istatistiksel olarak anlamli olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak, bu bulgular, karışım bileşenlerinin ve proses faktörlerinin bu üç yanıt değişkeni üzerindeki etkilerini anlamak için çokli faktörleri içeren karmaşık bir modelin gerekli olduğunu göstermektedir.

Seçilen modellerde anlamli olmayan uyum eksikliği ($p>0.05$) bulunması, istatistiksel olarak modellerin deneysel verilere uyumlu olduğunu gösterir. ANOVA testine bağlı olarak elde edilen anlamli p değerleri ($p<0.0001$), anlamli olmayan uyum eksikliği değerleri ($p>0.05$), ayarlanmış R^2 ($R_a^2>0.94$) ve tahmini R^2 ($R_t^2>0.89$) dahil olmak üzere yüksek R^2 değerleri ($R^2>0.96$), üç modelin (EE, KV ve AA) tepkilerini başarılı bir şekilde tahmin edebildiğini göstermektedir [256]. Modeller, veri setini etkili bir şekilde açıklamak için ayarlanmış R^2 'yi maksimize etmektedir. Ayrıca, ayarlanmış R^2 ile tahmini R^2 arasındaki farkın 0.2'den az olması, modellerin güçlü tahmin yeteneğine ve güvenilirliğine işaret etmektedir. Varyasyon katsayısının %10'dan düşük olması, veri setindeki değişkenliğin az olduğunu ve deneysel verilerin güvenilirliğini göstermektedir.

4.2.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Kuşburnu çekirdeği ekstraktının karışım bileşenleri (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve giriş sıcaklığı koşullarına bağlı olarak püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu için maksimum EE, KV ve AA değerleri elde etmek amacıyla bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu hususlara bağlı olarak optimum koşullar, en yüksek enkapsülasyon etkinliğini (%84.11), kurutma verimliliğini (%63.95) ve DPPH serbest radikal temizleme aktivitesini (4.19 mg-TEAC/g-KM) elde etmek için Design-Expert yazılımının I-optimal tasarımı ile hesaplanmıştır. Tablo 4.40'da görüldüğü gibi, 160.57 °C sıcaklıkta duvar malzemesi olarak sadece Arap zımkının kullanıldığı koşul maksimum sonuçları vermiştir. Bu

koşulları doğrulamak için doğrulama testi yapılmıştır. Gerçek ve tahmin edilen değerler arasındaki fark tatmin edici (%2'den az) bulunmuştur.

Tablo 4.39: Kuşburnu çekirdeği ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite için optimum koşullar*.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç	Deneysel Sonuç	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (°C)				
10.000	0.000	160.570	EE (%)	84.11	84.49	0.45
			KV (%)	63.95	63.99	0.06
			AA (mg-TEAC/g-KM)	4.19	4.18	0.24

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2.3.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında elde edilen toz numunelerin kalite analizleri yapılmıştır. Bu amaçla kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüller, nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Carr indeksi, partikül boyutu dağılımı ve toz morfolojisi açısından analiz edilmiştir.

Tablo 4.41, kuşburnu çekirdeği ekstraktının Tablo 4.40'da verilen optimum koşullarda mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüllerin nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük (%), yığın yoğunluğu (kg/m³), sıkıştırılmış yığın yoğunluk (kg/m³) ve Carr indeksi gibi bazı kalite özelliklerini sunmaktadır.

Tablo 4.40: Optimum püskürtmeli koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.

Nem (%)	Su Aktivitesi	Çözünürlük (%)	Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Carr indeksi (%)
4.71 ± 0.05	0.24 ± 0.02	95.03 ± 1.35	275.32 ± 3.29	399.58 ± 6.31	31.08 ± 1.91

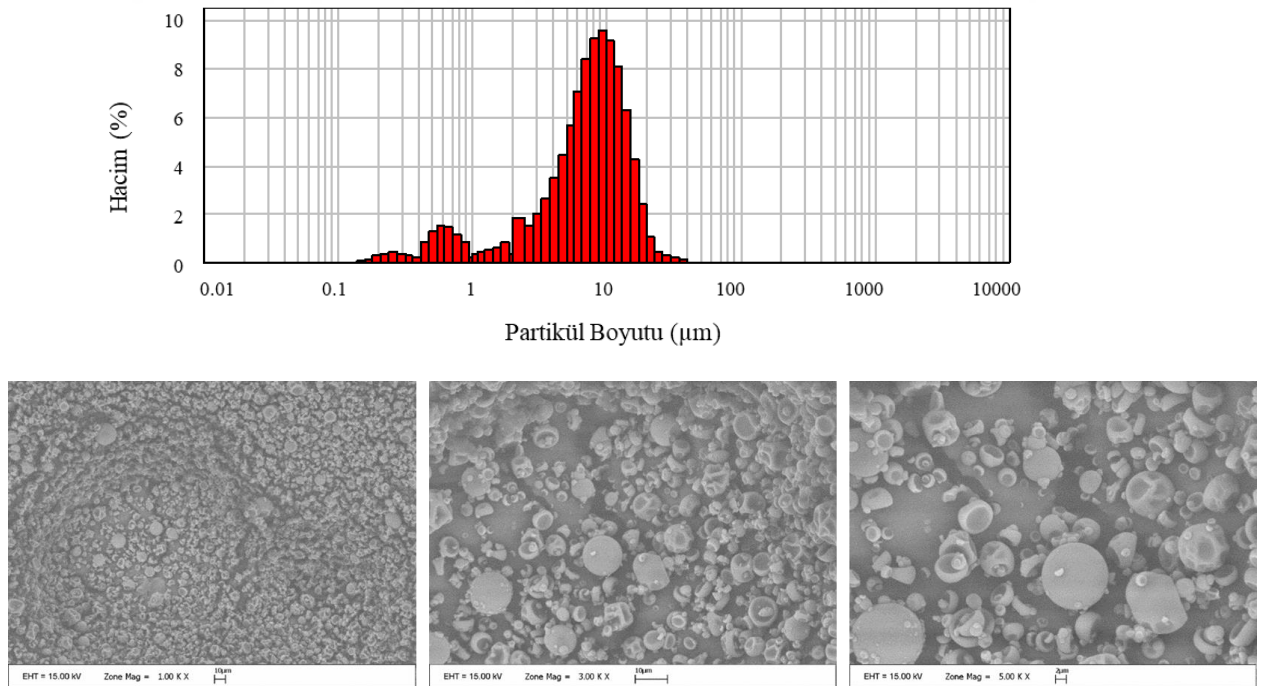
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Nem içeriği ve su aktivitesi, toz numuneler için çok önemli kalite parametreleridir. Bu değerler, püskürtmeli kurutma yöntemi ile elde edilen toz numunelerinin raf ömrünün belirlenmesinin yanı sıra akma, yapışkanlık ve aglomerasyon açısından kritik değerlerdir. Tablo 4.41'den görüldüğü üzere, optimum koşullarda püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerin nem içeriği ve su aktivite değerleri sırasıyla %4.71 ± 0.05 ve 0.24 ± 0.02 olarak belirlenmiştir. Her iki değer de püskürtmeli kurutma proses parametrelerinden (özellikle sıcaklık) büyük ölçüde etkilense de, sonuçlar literatürdeki verilerle uyumludur [261–263].

Çözünürlük, toz ürünlerin bir diğer önemli kalite özelliğidir. Özellikle, toz ürünlerin su fazını içeren çeşitli ürünlere işlenme yeteneği hakkında bilgi sağlar. Optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin çözünürlük değerleri 95.00 ± 1.35 olarak analiz edilmiştir. Çeşitli çalışmalara göre [244, 262], farklı taşıyıcı malzemelerle püskürtmeli kurutma yöntemi kullanılarak üretilen tozların çözünürlüğü %90'ın üzerinde olmalıdır.

Tozların yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluğu ve Carr indeksi, bir kaba sığabilecek tozun ağırlığını gösteren değişkenlerdir. Aynı zamanda tozların paketlenmesini, depolanmasını, taşınmasını ve akışkanlığını da etkilemektedirler [264]. Yığın yoğunluk, sıkıştırılmış yoğunluk ve Carr indeksi sırasıyla $275.32 \pm 3.29 \text{ kg/m}^3$, $399.58 \pm 6.31 \text{ kg/m}^3$ ve 31.08 ± 1.91 olarak ölçülmüştür (Tablo 4.41). Bu değerler genellikle püskürtme kurutma işlemi sırasında kullanılan taşıyıcı malzeme ve giriş sıcaklığı tarafından büyük ölçüde etkilenmesine rağmen, ambalajın hacmini azalttığı için genellikle yüksek yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk tercih edilir. Bu özellikleri sayesinde, nakliye ve üretim maliyetlerinde azalmaya neden olurlar [265–267].

Şekil 4.47’de, optimum püskürtmeli kurutma koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı sunulmuştur.



Şekil 4.47: Kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.

Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin partikül boyutu dağılımı d_{10} , d_{50} , d_{90} , $D_{[4,3]}$, $D_{[3,2]}$ ve açıklık değerleri ile belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla Tablo 4.42’de verilmiştir.

Tablo 4.41: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.

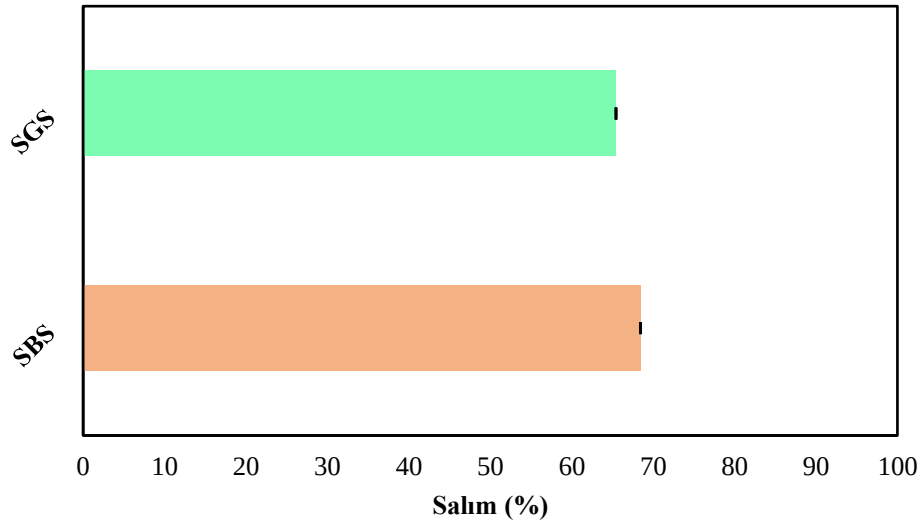
d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{[4,3]}$ (μm)	$D_{[3,2]}$ (μm)	Açıklık
1.37 ± 0.15	7.71 ± 0.01	14.68 ± 0.08	8.18 ± 0.04	3.202 ± 0.38	1.73 ± 0.01

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Partikül boyutu dağılımları Şekil 4.47’de görüldüğü gibi tek modludur. Bu durum, belirli bir boyut aralığında yoğunlaşma olduğunu ve diğer boyut aralıklarında ise daha az yoğunluk olduğunu göstermektedir. Bu, genellikle belirli bir ortalama boyutta yoğun bir dağılım olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca, SEM görüntüleri incelediğinde, mikrokapsüllerin çoğunlukla aynı morfolojik karakteristiklere ve boyutlara sahip olduğu görülebilmektedir; bu durum parçacık boyutu dağılım sonuçlarını doğrulamaktadır. Partikül boyutu dağılımı ve partikül morfolojisi, çözünürlük, yığın yoğunluk, sıkıştırılmış yığın yoğunluk, Carr indeksi gibi farklı teknolojik karakterizasyonları etkilemiştir. Örneğin, çok ince tozlar genellikle düşük ıslanabilirliğe sahip olma eğilimindedir ve bu da yapışkanlığın daha uzun süre devam etmesine izin verir [268].

4.2.3.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Tablo 4.40’da belirtilen optimum püskürtmeli kurutma koşullarında üretilen mikrokapsüller, biyoaktif bileşenlerinin gastrointestinal sistemdeki salım davranışını ve biyoyararlanımını değerlendirmek üzere *in vitro* sindirim sistemlerinde test edilmiştir. Bu testlerde, kapsüllenen polifenollerin mide ve bağırsak sıvısı olarak simüle edilen sindirim ortamlarında salımı incelenmiştir. Şekil 4.48, optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında kapsüllenmiş kuşburnu çekirdeği ekstraktı matrisindeki toplam fenolik maddelerin sırasıyla SGS ve SBS ortamlarına salımını göstermektedir.



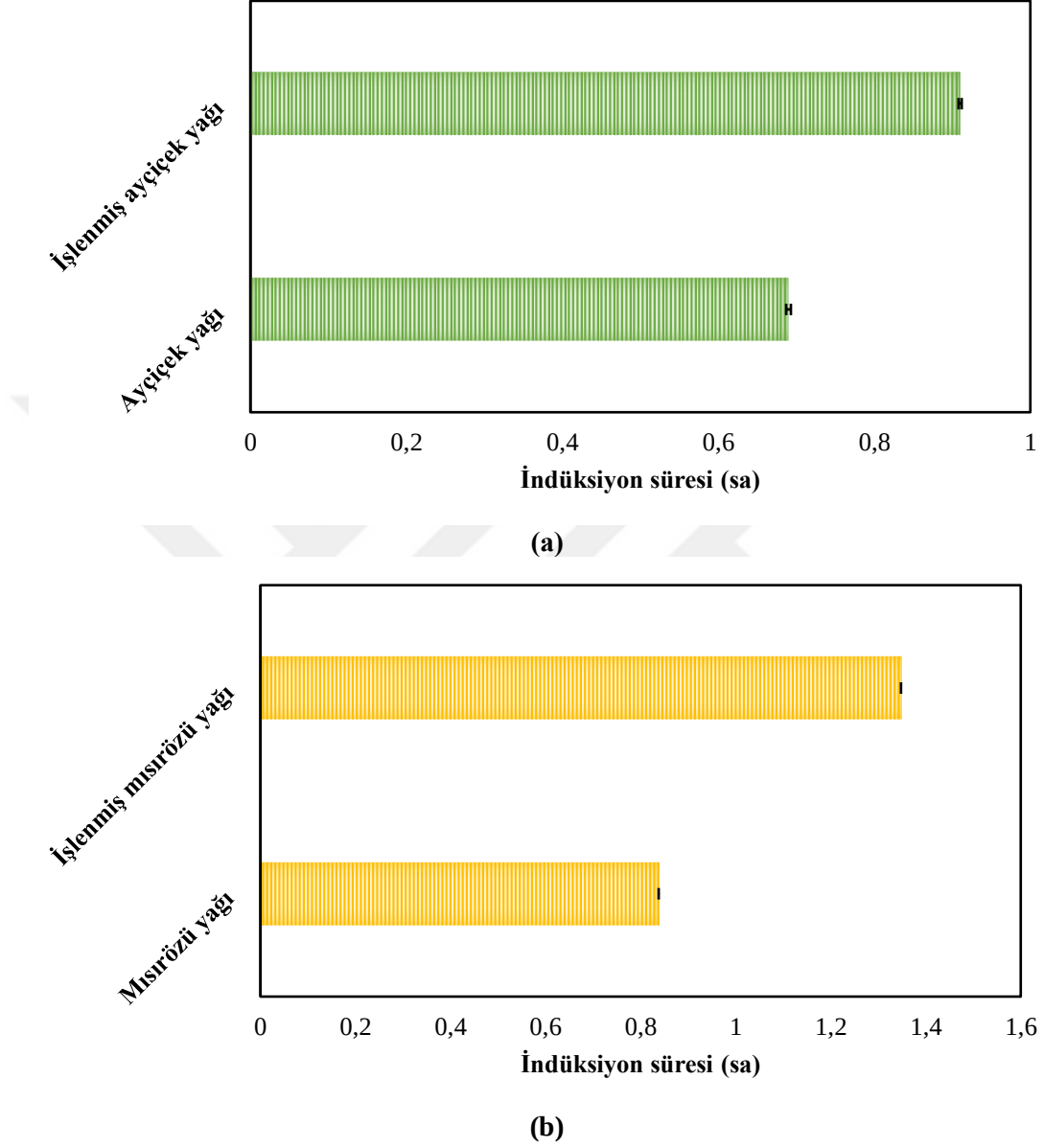
Şekil 4.48: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında kuşburnu çekirdeği ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içerisine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

pH=7.4'te bağırsak sıvısındaki polifenol salınımı, mide sıvısındakinden (pH=1.5) biraz daha fazladır (%68.47'ye karşılık %65.44). Bu durum, duvar malzemesinin ortamın asit koşullarına karşı direnci ile ilgili olabilir [203]. Şaponjac ve arkadaşları tarafından pancar posası özü içeren mikropartiküllerin *in vitro* salım testi sırasında benzer bir salım eğilimi (%39.03'e karşılık %27.82) bildirilmiştir [177]. Son zamanlarda Güngör ve arkadaşları, zencefil polifenollerinin modifiye nişasta ile kaplanmış mikropartiküllerden benzer salınım davranışlarını incelemiştir. TFM 'nin salımı bağırsak sisteminde mide sistemine göre daha yüksek (%35.97'ye karşı %33.98) bulunmuştur [204].

4.2.3.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikropartiküller, optimum püskürtmeli kurutma koşullarında (duvar malzemesi olarak sadece Arap zıncı, 160 °C) üretildikten sonra, iki popüler gıda ürünüde fonksiyonel gıda bileşeni olarak uygulanmıştır. Model gıda ürünleri olarak ayçiçek yağı ve mısırözü yağı kullanılmıştır. Yağ içeren gıda ürünlerinde oksidasyonu önlemek amacıyla sentetik antioksidanlar eklenmektedir. Aksi takdirde, lipid oksidasyonu üründe kötü koku ve renk oluşmasına neden olur ve bu da ürünün pazarlanmasını etkiler. Çeşitli araştırmalar sentetik katkı maddeleri yerine doğal bitki özlerinin kullanılmasını önermektedir [205]. Bununla birlikte, ürüne doğrudan ekstraktın uygulanmasının birçok dezavantajı vardır; kapsüllenmiş malzemeler gıda işleme ve depolama sırasında stabilite sağlar, polifenollerini çevresel etkilerden korur, istenmeyen tat ve kokuyu maskeler ve arzu edilen gıda özelliklerini geliştirir [105].

Şekil 4.49, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkı) yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir.



Şekil 4.49: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.49’da görüldüğü üzere, ayçiçek yağının indüksiyon süresi %31.88 oranında artarken, mısırözü yağının indüksiyon süresi %60.71 oranında artmıştır. Tablo 4.43, saf yağ numunelerinin ve optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsüllerle işlenmiş yağ numunelerinin toplam fenolik madde içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.42: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen kuşburnu çekirdeği ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.041 ± 0.001	0.0410 ± 0.002
	İşlenmiş	0.075 ± 0.003	0.0520 ± 0.002
Mısırözü	İşlenmemiş	0.036 ± 0.001	0.0441 ± 0.002
	İşlenmiş	0.055 ± 0.003	0.0644 ± 0.002

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.43'te görüldüğü üzere, ürünlerin polifenol seviyeleri ve antioksidan aktivitesi gibi diğer kalite parametreleri de önemli ölçüde iyileştirilmiştir. İşlenmiş ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri TFM açısından saf ayçiçek yağına göre %82.93 oranında, antioksidan aktive açısından ise %26.83 oranında artmıştır. İşlenmiş mısırözü yağının fonksiyonel özellikleri saf mısırözü yağına göre TFM açısından %52.78 oranında, antioksidan aktivite açısından ise %46.03 oranında artmıştır.

4.2.4. Erik Kabuğu Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu

4.2.4.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Karışım tasarımı ve yanıt yüzey grafikleri, Design-Expert yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur. Maksimum verimli mikrokapsül formülasyonunun geliştirilmesi için blok içermeyen (her deneme bağımsız) I-optimal tasarımı kullanılmıştır. Optimizasyon, mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliğini, kurutma verimliliğini, antioksidan aktivitesini ve toplam antosiyanin içeriğini maksimize etmek için yapılmıştır.

Erik kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma işlemiyle Arap zankı, maltodekstrin veya Arap zankı/maltodekstrin karışımlarında mikroenkapsülasyonu ile üretilen mikropartiküllerin enkapsülasyon etkinliğini, kurutma verimliliğini, antioksidan aktivitesini ve antosiyanin sonuçlarını listeleyen Tablo 4.44'te görüldüğü gibi I-optimal metoduyla 19 deneysel çalışma üretilmiştir.

Tablo 4.43: Erik kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.

Deney No	A: Arap zımkı (%, w/v)	B: Maltodekstrin (%, w/v)	C: Giriş Sıcaklığı (°C)	EE (%)	KV (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)	TA (mg-C3G/g-KM)
1	2.5	7.5	145	78.70	80.52	5.646 ± 0.000	0.662 ± 0.002
2	5	5	160	83.89	83.36	5.697 ± 0.001	0.674 ± 0.001
3	2.5	7.5	130	73.38	75.84	5.744 ± 0.001	0.610 ± 0.001
4	7.5	2.5	145	78.54	75.79	5.834 ± 0.003	0.622 ± 0.003
5	5	5	190	51.42	79.01	6.028 ± 0.001	0.545 ± 0.002
6	10	0	130	69.67	62.75	5.490 ± 0.002	0.532 ± 0.003
7	0	10	160	69.37	80.82	5.787 ± 0.001	0.610 ± 0.003
8	0	10	190	72.82	78.67	5.325 ± 0.001	0.551 ± 0.002
9	2.5	7.5	175	71.87	82.15	5.736 ± 0.000	0.618 ± 0.004
10	5	5	130	67.09	73.71	5.843 ± 0.002	0.602 ± 0.001
11	7.5	2.5	175	75.76	78.29	5.922 ± 0.000	0.610 ± 0.001
12	10	0	190	67.33	76.94	5.564 ± 0.002	0.638 ± 0.002
13	10	0	160	77.05	69.48	6.155 ± 0.002	0.554 ± 0.003
14	0	10	160	71.87	81.12	5.813 ± 0.006	0.602 ± 0.004
15	10	0	160	78.61	68.89	6.078 ± 0.004	0.549 ± 0.004
16	5	5	190	50.40	77.44	6.034 ± 0.001	0.539 ± 0.001
17	5	5	160	85.18	83.27	5.689 ± 0.004	0.654 ± 0.002
18	0	10	130	83.11	76.07	5.572 ± 0.006	0.547 ± 0.005
19	5	5	160	83.15	82.28	5.670 ± 0.001	0.657 ± 0.003

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

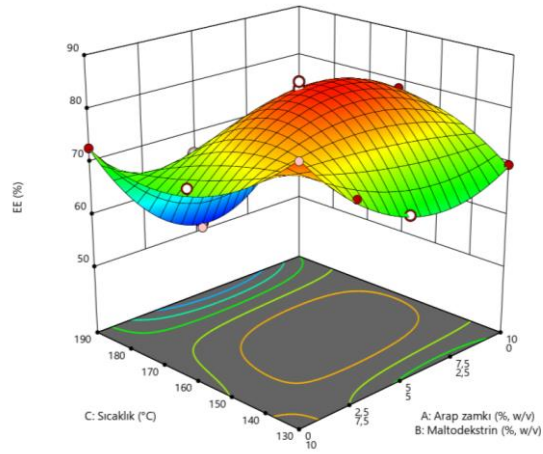
Tablo 4.44'ten görüldüğü üzere, mevcut kapsülleme sistemi için EE değerleri %50.40 (16 no'lu çalışma) ile %85.18 (17 no'lu çalışma) arasında değişirken, KV değerleri ise %62.75 (6 no'lu çalışma) ile %83.36 (2 no'lu çalışma) arasında değişmektedir. Mzoughi ve diğ. tarafından yapılan bir çalışmada, erik kabuğu ekstraktının maltodekstrin içinde mikrokapsüllenmesi için %94.64 oranında EE ve %76.97 oranında KV değerleri rapor edilmiştir [269]. Bu bulgular, mevcut çalışmanın sonuçları ile uyumludur. Bulgular arasındaki hafif farklılık, bu çalışmada Arap zımkının maltodekstrin ile birlikte duvar malzemesi olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, giriş hava sıcaklıkları da farklılık göstermektedir; bu çalışmada optimum giriş sıcaklığı 160°C olarak belirlenirken, Mzoughi ve diğ. tarafından yapılan çalışmada ise bu değer 190°C olarak rapor edilmiştir. Benzer şekilde, bazı çalışmalar, bu iki duvar malzemesinin tek başına kullanılması yerine, onların karışımının, kapsül içindeki aktif bileşenleri korumak için daha iyi formülasyonlar sağladığını rapor etmiştir [213, 215, 238, 252]. González-Peña ve diğ., Arap zımkı ve maltodekstrinin eşit konsantrasyonlardaki karışımının, maltodekstrin ve meskit sakızı karışımına kıyasla karotenoidleri kapsülleme ve tutma konusunda daha iyi performans gösterdiğini rapor etmiştir [239].

Ayrıca, Archaina ve diğ., roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) ekstraktının mikrokapsülasyonu için püskürtmeli kurutma sisteminde duvar malzemesi matrisi olarak bu karışımı önermiştir [234].

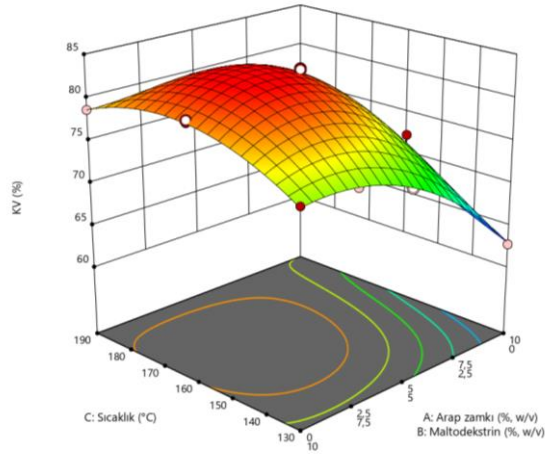
Benzer şekilde, Laureanti ve diğ., Arap zamkının maltodekstrin ile birlikte uygulandığında çekirdekdeki biyoaktif madde için daha iyi koruma sağladığını rapor etmiştir [270]. Mikro kapsüllerin DPPH radikaline karşı antioksidan aktivitesi, gram kurutulmuş mikro kapsül başına 5.325 ile 6.155 mg trolox eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) arasında değişirken, TA değerleri gram kurutulmuş mikro kapsül başına 0.532 mg siyanidin-3-glukozit (mg-C3G/g-KM) ile 0.674 mg siyanidin-3-glukozit (mg-C3G/g-KM) arasında değişmektedir. Duvar malzemesi olarak tek başına Arap zamkının kullanıldığı durumda 160°C sıcaklıkta en yüksek antioksidan aktivite gözlemlenirken, tek başına maltodekstrinin kullanıldığı durumda ise en düşük antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Bu durum, hidrofilik bir zamk olan Arap zamkının kapsül kabuğundan antioksidanların salınmasını önlemesini sağlayan iyi film oluşturuıcı özellikleriyle açıklanabilir [254]. Murugesan ve diğ., Arap zamkının polifenollerin kapsül içinde muhafaza edilmesine daha uygun bir morfoloji sağladığını ileri sürmüşlerdir [255]. Machado ve diğ. tarafından yapılan çalışmada, Arap zamkının maltodekstrin ile birlikte kullanılmasının, antosiyanin açısından zengin kırmızı lahana ekstraktının mikroenkapsülasyonu için gelişmiş biyoaktif özellikler sağladığı bildirilmiştir [271]. Örneğin, kaplama matrisindeki maltodekstrin, aktif maddenin ısıl işlem nedeniyle bozunmasını önlemektedir [271].

Seçilen yanıtlar üzerindeki karışım bileşenlerinin ve proses parametresinin etkilerini anlamak amacıyla Design-Expert yazılımının I-optimal tasarımı kullanılarak yanıt yüzey grafikleri üretilmiştir.

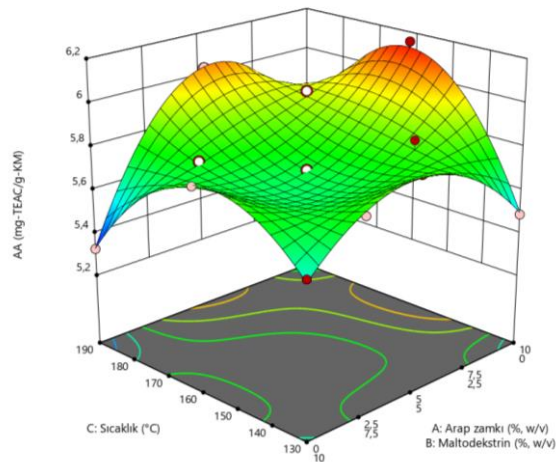
Şekil 4.50, erik kabuğu ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikro kapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamk ve maltodekstrin) ve proses faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkilerini göstermektedir.



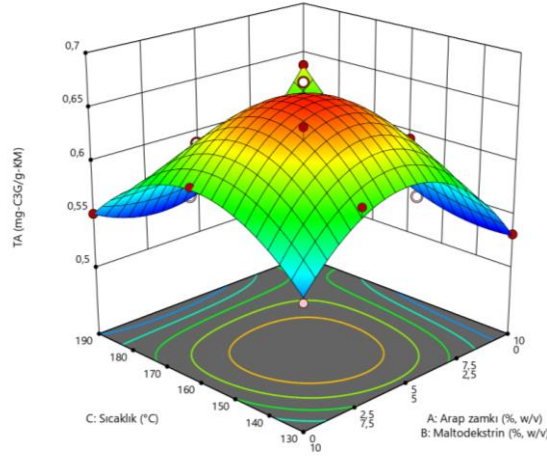
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.50: Erik kabuğu ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkileri.

Şekil 4.50a, Arap zımkı ve maltodekstrin karışım bileşenlerinin tek başına kullanılmasının, EE açısından karışımlarına (Arap zımkı ve maltodekstrin karışımı) kıyasla daha düşük performans sergilediğini göstermektedir. Bu durum, Arap zımkı ve maltodekstrin karışımının, TFM'nin partiküllerden kaçışını önlemek için etkili bir matris oluşturabileceğini düşündürmektedir. Noghabi ve diğ. [256], Felix ve diğ. [257], Mahdavi ve diğ. [215] ile González-Peña ve diğ. [239] Arap zımkı ve maltodekstrinin birlikte kullanıldığı püskürtmeli kurutma yöntemiyle yapılan mikrokapsülasyon çalışmalarında benzer raporlar sunmuşlardır.

Ayrıca, Şekil 4.50a'da görüldüğü gibi, giriş sıcaklığının EE üzerinde olumsuz bir etkisi vardır. 190 °C'de, EE veriminde %85.18'den (17 no'lu çalışma) %50.40'a (16 no'lu çalışma) düşüş gözlemlenmiştir. Tan ve diğ., acı kavun özütünün [213] mikrokapsülasyonu için, Nambiar ve diğ. ise taze hindistan cevizi suyunun [258] mikrokapsülasyonu için benzer bir eğilimi rapor etmiştir.

Şekil 4.50b, karışım bileşenlerine ve giriş sıcaklığına bağlı olarak KV değişimini göstermektedir. Sıcaklığın artırılması, başlangıçta aynı kaplama malzemesi (tek başına maltodekstrin) altında KV'yi yükseltmiştir. Ancak, 160 °C'den sonra KV'de azalma eğilimi gözlemlenmiştir (%81.12'den %78.67'ye). Tan ve diğ. tarafından yapılan çalışmada, mikrokapsül sıcaklığının camısı geçiş sıcaklığından daha hızlı artması durumunda mikrokapsülün içerdiği malzemenin yapısal değişikliklere uğraması nedeniyle kapsülün yüzeyinde yapışkanlık oluşturabileceği ve bu durumun kurutma verimliliğini azaltabileceği belirtilmiştir.

Şekil 4.50c, karışım bileşenlerinin ve giriş sıcaklığının, üretilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Beklenildiği gibi, mikropartiküllerin antioksidan aktivitesi, yüksek giriş sıcaklığı değerlerinde keskin bir şekilde azalmıştır. Genel olarak, Arap zımkı ve maltodekstrin karışımının daha iyi antioksidan aktivite bulguları verdiği gözlemlenmiştir. Ancak, sadece Arap zımkı içeren mikrokapsül, 160 °C sıcaklık altında en yüksek antioksidan aktiviteyi (6.15 mg-TEAC/g-KM) göstermiştir. Bu, Arap zımkının kendi potansiyel antioksidan aktivitesinin, nihai ürünün antioksidan kapasitesine katkıda bulunması sonucu olabilir [260].

Şekil 4.50d, karışım bileşenlerine ve giriş sıcaklığına bağlı olarak, üretilen mikrokapsüllerin TA değişimini göstermektedir. TA giriş sıcaklığına karşı AA ile benzer reaksiyon göstermiştir. TA değerlerinin artan giriş sıcaklığıyla birlikte azalması, antosiyanin içeriğinin mikropartikülün antioksidan kapasitesine katkıda bulunduğunu da göstermektedir. Antosiyaninlerin ısıya duyarlı yapısı göz önüne alındığında, bu bulgu kaçınılmazdır. Kalušević ve diğ. tarafından yapılan çalışma, maltodekstrin bazlı mikrokapsüllerde bulunan antosiyanin açısından zengin siyah soya fasulyesi kabuğu ekstraktının, daha yüksek giriş sıcaklığı altında antosiyanin ve antioksidan aktivitesinin azaldığını göstermektedir [241]. Bu durum, artan sıcaklıkla birlikte mikrokapsüllerin yapısının bozulmasıyla ilişkilendirilebilir ve bu da antosiyanin ve antioksidan aktivitesinde azalmaya neden olabilir. Benzer şekilde, Pal ve Bhattacharjee (2018) tarafından yapılan çalışmada, Arap zımkı/maltodekstrin içeren lutein açısından zengin ekstrakt içeren mikrokapsüllerin 150-170 °C’de nispeten yüksek lutein içeriğine sahip olduğu, ancak 170 °C’den sonra lutein içeriğinin azalmaya başladığı gözlemlenmiştir [272].

4.2.4.2. Modelleme Çalışması

Erik kabuğu polifenollerinin püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu prosesinde kullanılan karışım bileşenleri ve proses faktörlerinin etkisini belirlemek için Design-Expert yazılımı kullanılmıştır. Bu program, iki farklı karışım bileşeni (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve bir proses faktörü (giriş sıcaklığı) üzerinde yapılan deneylerin verilerini analiz ederek, en uygun formülasyonun belirlenmesine yardımcı olmuştur. Proses parametreleri ile yanıtlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için I-optimal tasarım ile Denklem 4.21-4.24’te verilen modeller geliştirilmiştir.

$$\text{EE} = 77.81 A + 70.48 B + 38.43 AB - 0.8958 AC - 5.28 BC - 18.87 ABC - 9.37 AC^2 + 7.57 BC^2 - 95.51 ABC^2 \quad (4.21)$$

$$\text{KV} = 69.31 A + 80.75 B + 30.96 AB + 6.93 AC + 1.40 BC - 8.08 ABC + 0.5837 AC^2 - 3.47 BC^2 - 21.63 ABC^2 \quad (4.22)$$

$$\text{AA} = 6.13 A + 5.79 B - 1.07 AB + 0.0326 AC - 0.1137 BC + 0.5869 ABC - 0.5960 AC^2 - 0.3499 BC^2 + 2.84 ABC^2 \quad (4.23)$$

$$\text{TA} = 0.5506 A + 0.6077 B + 0.3378 AB + 0.0535 AC - 0.0004 BC - 0.2498 ABC + 0.0333 AC^2 - 0.0562 BC^2 - 0.2998 ABC^2 \quad (4.24)$$

Modeller, her faktörün belirli seviyeleri için bağımlı değişkenleri tahmin etmek amacıyla kodlanmış faktörlere göre türetilmiştir. Kodlanmış denklem, faktör katsayılarını karşılaştırarak faktörlerin göreceli etkisini belirlemek için kullanışlıdır. Denklem (4.21)-(4.24)'te yer alan polimer çözeltisindeki Arap zamk konsantrasyonu (A, % w/v), polimer çözeltisindeki maltodekstrin konsantrasyonu (B, % w/v) ve püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı (C, °C) değerleri, mevcut kapsülleme sisteminin bağımsız değişkenlerini göstermektedir. Ayrıca bu denklemlerdeki, toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği (EE, %), kurutma verimliliği (KV, %), antioksidan aktivite (AA, mg-TEAC/g-KM) ve toplam antosiyanin içeriği (TA, mg-C3G/g-KM) gibi bağımlı değişkenlerin maksimize edilmesi ana hedef olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.45, erik kabuğu ekstraktının maltodekstrin, Arap zamk veya maltodekstrin/Arap zamk karışımında püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu için sırasıyla EE, KV, AA ve TA değerlerine yönelik ANOVA test sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.44: Erik kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

	Kaynak	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
EE	Model	1648.05	8	206.01	155.53	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.8341	1	0.8341	0.6297	0.4459	
	AB	173.94	1	173.94	131.32	< 0.0001	
	AC	1.67	1	1.67	1.26	0.2871	
	BC	59.95	1	59.95	45.26	< 0.0001	
	ABC	40.84	1	40.84	30.83	0.0002	
	AC ²	89.38	1	89.38	67.48	< 0.0001	
	BC ²	59.68	1	59.68	45.06	< 0.0001	
	ABC ²	507.42	1	507.42	383.10	< 0.0001	
	Kalıntı	13.25	10	1.32			
	Uyum Eksikliği	6.29	5	1.26	0.9057	0.5419	önemsiz
	Saf Hata	6.95	5	1.39			
	Kor Toplam	1661.29	18				
	CV: % 1.57	$R^2=0.9920$		$R^2_a=0.9856$	$R^2_t=0.8544$		
KV	Model	521.13	8	65.14	131.46	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	193.21	1	193.21	389.91	< 0.0001	
	AB	112.91	1	112.91	227.86	< 0.0001	
	AC	100.38	1	100.38	202.58	< 0.0001	
	BC	4.19	1	4.19	8.45	0.0156	
	ABC	7.48	1	7.48	15.10	0.0030	
	AC ²	0.3470	1	0.3470	0.7003	0.4222	
	BC ²	12.51	1	12.51	25.24	0.0005	
	ABC ²	26.03	1	26.03	52.54	< 0.0001	
	Kalıntı	4.96	10	0.4955			
	Uyum Eksikliği	2.79	5	0.5571	1.28	0.3953	önemsiz
	Saf Hata	2.17	5	0.4339			
	Kor Toplam	526.09	18				
	CV: % 0.9121	$R^2=0.9906$		$R^2_a=0.9830$	$R^2_t=0.8464$		
AA	Model	0.8011	8	0.1001	99.56	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.1061	1	0.1061	105.46	< 0.0001	
	AB	0.1347	1	0.1347	133.98	< 0.0001	
	AC	0.0022	1	0.0022	2.21	0.1679	
	BC	0.0278	1	0.0278	27.64	0.0004	
	ABC	0.0395	1	0.0395	39.29	< 0.0001	
	AC ²	0.3619	1	0.3619	359.79	< 0.0001	
	BC ²	0.1275	1	0.1275	126.81	< 0.0001	
	ABC ²	0.4493	1	0.4493	446.76	< 0.0001	
	Kalıntı	0.0101	10	0.0010			
	Uyum Eksikliği	0.0063	5	0.0013	1.69	0.2888	önemsiz
	Saf Hata	0.0037	5	0.0007			
	Kor Toplam	0.8111	18				
	CV: %0.5496	$R^2=0.9876$		$R^2_a=0.9777$	$R^2_t=0.8012$		

Tablo 4.45 (devamı): Erik kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

	Model	0.0386	8	0.0048	70.74	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.0005	1	0.0005	7.28	0.0224	
	AB	0.0134	1	0.0134	196.85	< 0.0001	
	AC	0.0060	1	0.0060	87.57	< 0.0001	
	BC	3.681E-07	1	3.681E-07	0.0054	0.9429	
TA	ABC	0.0072	1	0.0072	104.88	< 0.0001	
	AC ²	0.0011	1	0.0011	16.57	0.0022	
	BC ²	0.0033	1	0.0033	48.22	< 0.0001	
	ABC ²	0.0050	1	0.0050	73.25	< 0.0001	
	Kalıntı	0.0007	10	0.0001			
	Uyum Eksikliği	0.0004	5	0.0001	1.37	0.3689	önemsiz
	Saf Hata	0.0003	5	0.0001			
	Kor Toplam	0.0393	18				
	CV: %1.38	$R^2=0.9826$		$R_a^2=0.9687$		$R_t^2=0.8349$	

Karışım bileşenleri ve giriş sıcaklığı gibi proses parametrelerinin püskürtmeli kurutma prosesine etkileri ve model uyumu, Design-Expert yazılımı aracılığıyla varyans analizi ile belirlenmiştir. F-değerleri, p-değerleri, uyum eksikliği değerleri, CV, R^2 , ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 değerlerinin etkileri istatistiksel analiz ile incelenmiştir. Bu analize dayanarak, EE, KV, AA ve TA gibi tüm yanıt değişkenleri için türetilen modellerin istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.0001$). Bu bulgu, türetilen modellerin değişkenler arasındaki ilişkileri ve veri setindeki değişkenlikleri etkili bir şekilde açıklayabildiğini göstermektedir. Ayrıca, EE yanıt değişkeni dışında lineer karışım terimleri de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). EE yanıt değişkeni için lineer karışım terimlerinin p değerinin 0.05'den büyük olması, bu etkileşimlerin modelde istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermektedir.

Tablo 4.45'de belirtildiği gibi, A, B, AB, BC, ABC, AC², BC² ve ABC² EE için istatistiksel olarak anlamlı model terimlerini oluştururken, A, B, AB, AC, BC, ABC, BC² ve ABC² KV için istatistiksel olarak anlamlı model terimleri olarak belirlenmiştir ($p<0.05$). Diğer taraftan, A, B, AB, BC, ABC, AC², BC², ABC², AA için istatistiksel olarak anlamlı model terimlerini oluştururken, A, B, AB, AC, ABC, AC², BC², ABC², TA için istatistiksel olarak anlamlı model terimleri olarak belirlenmiştir ($p<0.05$). p-değerlerinin 0.05'ten büyük olması, model terimlerinin yanıt üzerinde istatistiksel olarak etkili olmadığını göstermektedir.

Design Expert yazılımının I-optimal tasarımı ile türetilen modeller için uyum eksikliği p-değeri 0.05'ten büyük olduğunda, bu, modelin deneysel verilerle istatistiksel olarak anlamlı bir uyum

eksikliği sergilemediğini ifade etmektedir. Dolayısıyla, modellerin deneysel verilere uyum sağlama yeteneğinin istatistiksel açıdan güvenilir olduğu sonucuna varılabilir.

Anlamlı p değerleri ($p < 0.0001$), anlamlı olmayan uyum eksikliği değerleri ($p > 0.05$), ayarlanmış R^2 ($R^2_a > 0.96$) ve tahmini R^2 ($R^2_t > 0.80$) değerleri dahil olmak üzere R^2 (> 0.98) değerlerinin tümü tatmin edici bulunmuştur.

Bu durum, EE, KV, AA ve TA için türetilen modellerin mevcut kapsülleme sistemini etkili bir şekilde açıkladığını ve sistemin davranışını öngörmede başarılı olduğunu göstermektedir [256]. Seçilen modeller ayarlanmış R^2 'yi maksimize etmektedir ($R^2_a > 0.96$). Bu, modellerin veri setini en iyi şekilde açıklamak için optimize edildiğini göstermektedir. Ayrıca, ayarlanmış R^2 ile tahmini R^2 değerleri arasındaki farkın 0.2'den az olması, her iki değer de istenilen uyum içinde olduğunu göstermektedir. Sonuçların güvenilirliği ile ilişkilendirilen CV değeri, tüm modeller için %10'dan düşük bulunmuştur. Bu bulgu, veri setindeki değerlerin genellikle ortalama değere daha yakın olduğunu ve dolayısıyla değişkenliğin az olduğunu, yani veri setinin homojen olduğunu göstermektedir.

4.2.4.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Erik kabuğu ekstraktının karışım bileşenleri (Arap zımkı ve maltodekstrin) ve giriş sıcaklığı koşullarına bağı olarak püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonunda en uygun formülasyonun belirlenmesi için bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, en yüksek EE, KV, AA ve TA değerlerine ulaşmak için en uygun kombinasyonu belirlemektir. Tablo 4.46, maksimum yanıtlara sahip püskürtmeli kurutma sistemi için optimum koşulları vermektedir. Optimum proses koşullarının geçerliliğini doğrulamak için bir validasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullarda (Arap zımkı ve maltodekstrin eşit oranda, ~160 °C'de), gerçek ve tahmini bulgular arasındaki farklar %2'nin altında olup, bu seviye tatmin edici düzeydedir.

Tablo 4.45: Erik kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç	DeneySEL Sonuç	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (°C)				
5.141	4.859	158.784	EE (%)	84.12	85.00	1.05
			KV (%)	82.49	81.50	1.20
			AA (mg-TEAC/g-KM)	5.69	5.78	1.58
			TA (mg-C3G/g-KM)	0.66	0.65	1.52

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2.4.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında elde edilen toz ürünlerin fizikokimyasal özellikleri, nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Carr indeksi, SEM ve partikül boyutu dağılımı gibi analizler yoluyla belirlenmiştir.

Püskürterek kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri genellikle ürüne, kullanılan taşıyıcı malzemelere ve proses koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Nem içeriği, püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen tozun partikül boyutu dağılımını etkilemektedir. Nem seviyelerinin kontrol edilmesi, ürün kalitesi ve performansı için kritik olan istenilen parçacık boyutunun sağlanmasına yardımcı olabilir. Bununla birlikte, su aktivitesi, tozun çözünürlük ve dağılılabilirlik gibi rekonstitüsyon özelliklerini de etkilemektedir. Nem ve su aktivitesinin izlenmesi, tozun depolama sürecinde yapışma veya topaklanma gibi istenmeyen durumların önlenmesine katkıda bulunur.

Tablo 4.47, erik kabuğu ekstraktının Tablo 4.46’da verilen optimum koşullarda mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüllerin nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük (%), yığın yoğunluğu (kg/m³), sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (kg/m³) ve Carr indeksi gibi bazı kalite özelliklerini sunmaktadır.

Tablo 4.46: Püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.

Nem (%)	Su Aktivitesi	Çözünürlük (%)	Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Carr indeksi (%)
4.15 ± 0.52	0.21 ± 0.00	98.00 ± 0.00	315.15 ± 2.53	445.38 ± 1.13	29.24 ± 0.64

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

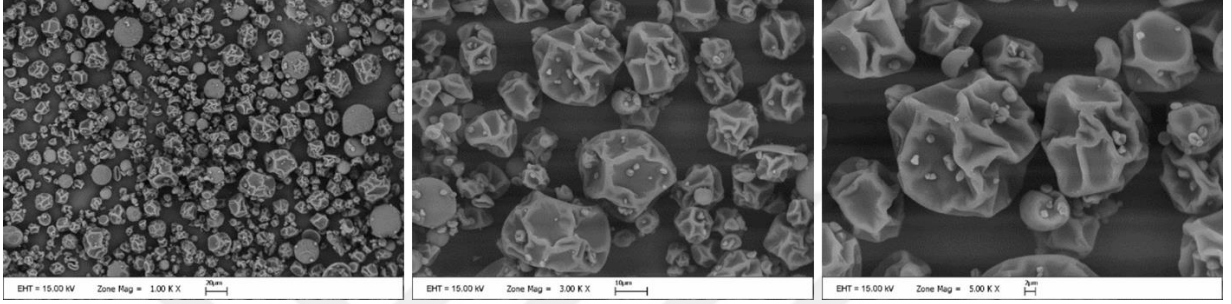
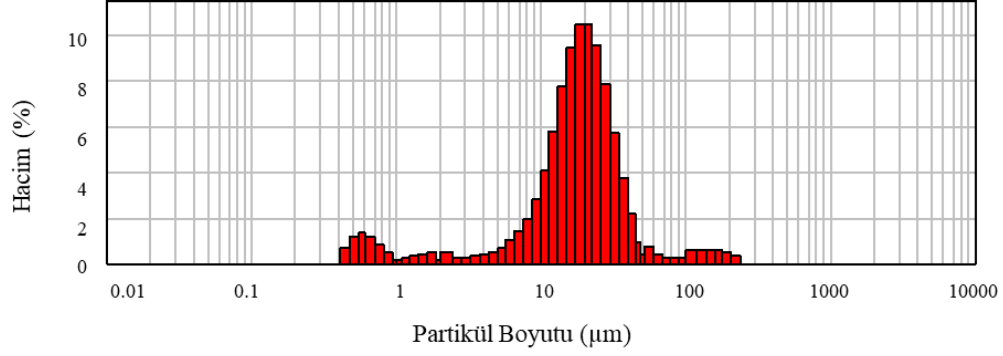
Tablo 4.47’den görüldüğü üzere, optimum koşullarda üretilen erik kabuğu tozlarının nem içeriği ve su aktivite değerleri sırasıyla 4.15±0.52 ve 0.21±0.00 olarak belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz numuneler için nem (<5%) ve su aktivitesi (<0.3) değerleri istenilen aralıkta bulunmaktadır [222].

Endüstri için kritik bir ölçüm olan kurutma verimliliği, kurutma sonrası toplanan kuru toz kütlelerinin, ilk beslemedeki katı maddelerin toplam ağırlığına bölünmesiyle hesaplanır. Ürün veriminin arttırılması, doğrudan kârlılığın ve finansal kazanımların artması anlamına geldiğinden, endüstriler için büyük önem taşımaktadır. Bhandari ve diğ., başarılı bir püskürtme kurutma işleminin %50'nin üzerinde verim sağlaması gerektiğini belirtmiştir [273]. Optimum koşullarda üretilen erik kabuğu tozlarının kurutma verimliliği literatürle uyumlu olarak (81.50) olarak bulunmuştur.

Çözünürlük, birçok endüstride tozların etkinliğini ve kullanılabilirliğini büyük ölçüde etkileyen bir diğer kritik özelliktir. Bu parametre, püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen tozun su içinde etkili bir şekilde çözünme veya süspanse olma yeteneğini gösterir. Erbay ve diğ., daha yüksek çözünürlüğe sahip toz ürünler elde etmek için, çıkış sıcaklığının ve atomizasyon hızının çok önemli olduğunu vurgulamıştır [274]. Optimum kurutma sıcaklığında maltodekstrin ve Arap zıncı birlikte kullanılarak püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen erik kabuğu mikrokapsüllerinin çözünürlüğü 98.00 ± 0.00 olarak ölçülmüştür.

İlaçtan gıda üretimine kadar geniş bir yelpazede faaliyet gösteren çeşitli endüstriler, üretim süreçlerini ve ürün performanslarını optimize etmeye çalışırken, tozların yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğunu anlamak giderek daha önemli hale gelmektedir. Çünkü yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, ambalajlama, depolama ve transfer süreçlerinde son derece etkilidir. Optimum koşullarda üretilen tozun yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ve Carr indeksi sırasıyla $315.15 \pm 2.53 \text{ kg/m}^3$, $445.38 \pm 1.13 \text{ kg/m}^3$ ve 29.24 ± 0.64 olarak belirlenmiştir.

Şekil 4.51'de, optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı sunulmuştur.



Şekil 4.51: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.

Bir tozun partikül boyutu, işleme, taşıma ve depolama özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olan, kritik bir fiziksel özelliktir. Ayrıca atomizasyon ve besleme çözeltisinin konsantrasyonu, giriş sıcaklığı gibi faktörlerle de değişime uğrayabilir [275]. Optimal noktada alınan örneklerde, partikül boyutu ölçümleri d_{10} , d_{50} , d_{90} , $D_{[4,3]}$ ve $D_{[3,2]}$ ve açıklık değerleri sırasıyla Tablo 4.48’de verilmiştir.

Tablo 4.47: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.

d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{[4,3]}$ (μm)	$D_{[3,2]}$ (μm)	Açıklık
5.88 ± 0.19	18.95 ± 0.24	37.97 ± 1.54	24.76 ± 1.44	6.24 ± 0.05	1.70 ± 0.05

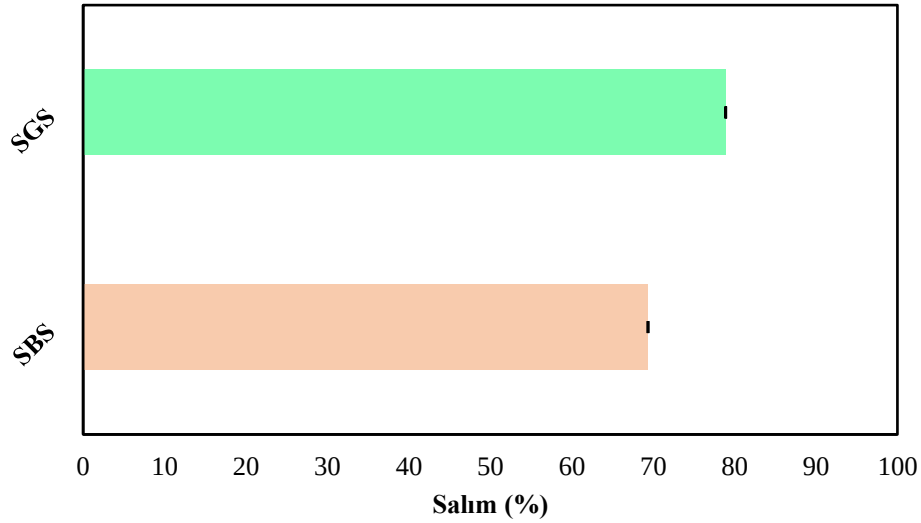
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.51’deki SEM görüntülerine göre, püskürtme kurutma yöntemiyle üretilen mikrokapsüller genellikle daha küresel bir şekle sahiptirler, bu da onların daha küçük ve daha kompakt görünmelerine neden olur. Daha düşük giriş havası sıcaklıklarında parçacıkların çoğunluğu büzüşmüş bir yüzey sergilerken, daha yüksek kurutma sıcaklıkları pürüzsüz bir yüzeye sahip parçacıkların oranının artmasına neden olmuştur [245]. Ayrıca, Jafari ve diğ., yüksek sıcaklıkların suyun buharlaşmasını hızlandırarak daha pürüzsüz ve sağlam kabukların oluşmasına katkıda bulunduğunu belirtmiştir. Sonuç olarak, düşük veya orta giriş hava

sıcaklıklarında esnek ve çökmüş yapılar, daha yüksek hava sıcaklıklarında ise gözenekli ve rijit yapılar gözlemlenmiştir. Bu farklı yüzey morfolojileri, kurutma sürecinde kullanılan farklı sıcaklık seviyelerine bağlanabilir [245, 263, 276].

4.2.4.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Tablo 4.46'da belirtilen optimum püskürtmeli kurutma koşullarında (kaplama malzemesi olarak eşit oranda Arap zıncı ve maltodekstrin karışımı, ~160 °C giriş sıcaklığı) üretilen mikrokapsüllere *in vitro* salım testi uygulanmıştır. Bu testlerde sindirim sistemi, mide (gastrik) sıvısı ve bağırsak sıvısı olarak simüle edilmiştir. Şekil 4.52'de, optimum püskürtmeli kurutma koşulları altında kapsüllenmiş erik kabuğu ekstraktı matrisinin SGS ve SBS ortamlarındaki toplam fenolik madde salım davranışı görülmektedir.



Şekil 4.52: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında erik kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içerisine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.52'den görüldüğü üzere, elde edilen mikrokapsüllerden TFM salımı simüle edilmiş gastrik sıvıda (pH=1.5) %78.92, simüle edilmiş bağırsak sıvısında (pH=7.4) ise %69.37 olarak ölçülmüştür. Biyoaktif maddelerin mideden bütün olarak geçip ince bağırsağa ulaşması beklenirken, mide sıvısındaki salım oranının beklenenden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, muhtemelen mide sıvısının asit düzeyi ve sindirim enzimlerinin etkisiyle bağlantılıdır. Ayrıca, salınmaya karşı direnç, kaplama matrisinin içeriği, mukavemeti ve sindirim enzimlerine karşı duyarlılığı gibi faktörlerle de ilişkilidir [251]. Bernal-Millán ve diğ., kekik polifenollerinin sindirim sürecindeki davranışını inceledikleri çalışmada, SGS'de (%91,38) gözlenen TFM salımının, SBS'de (%85,05) gözlenen salımdan daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir [249].

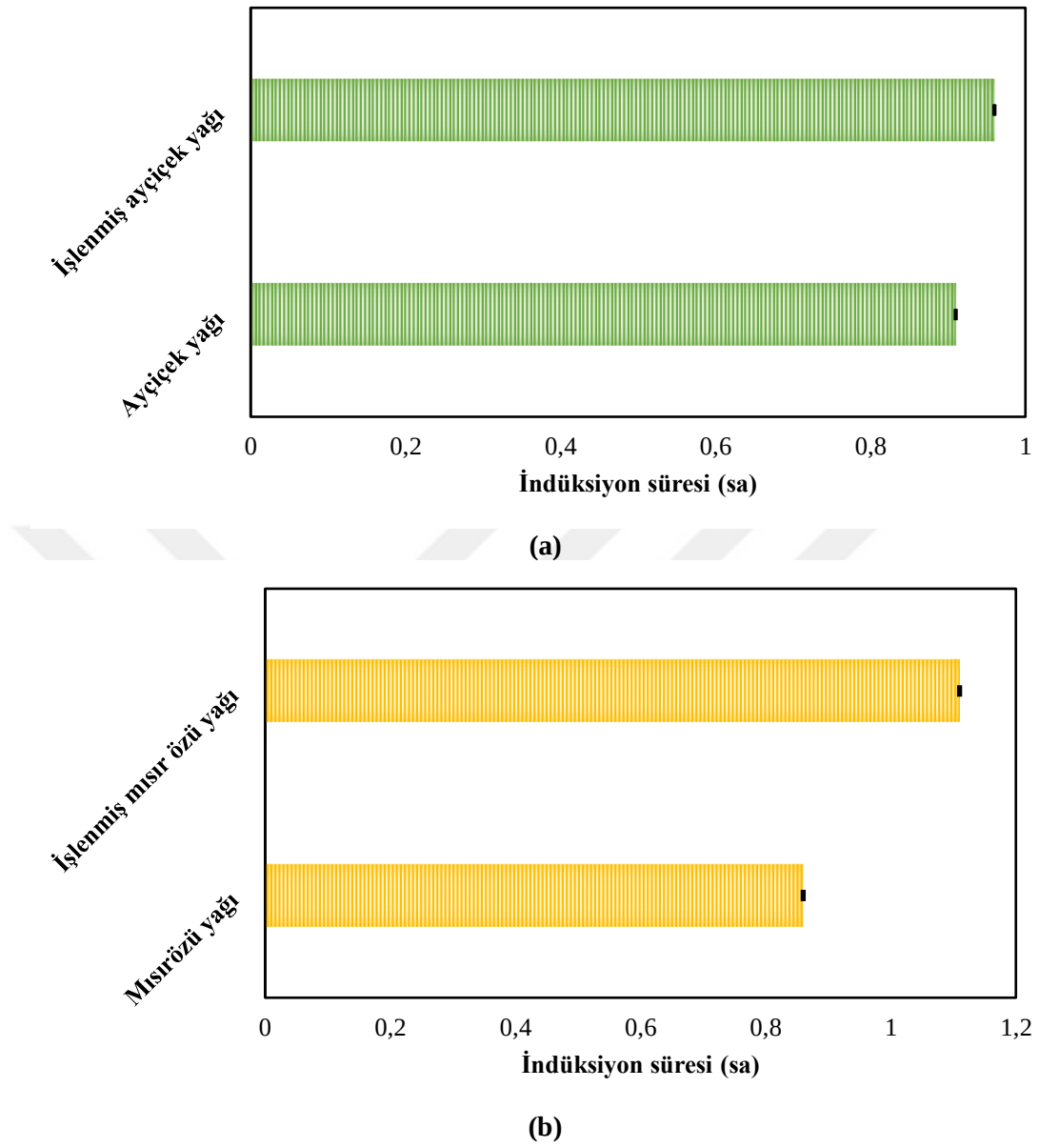
Stevia rebaudiana özütü mikrokapsüllerinin fenolik bileşiklerinin de aljinat taneciklerinden benzer bir salım davranışı gösterdiği [250] ve melisa özütü fenoliklerinin ise sırasıyla aljinat taneciklerinden ve kitosan kaplı aljinat taneciklerinden [169] daha yüksek oranda SGS'ye salındığına dair çalışmalar mevcuttur. Bu bulgular, mikrokapsüllerin bileşimine ve kaplama materyallerine bağlı olarak fenolik bileşiklerin sindirim sistemindeki davranışlarının değişebileceğini göstermektedir.

4.2.4.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Optimum koşullarda üretilen mikrokapsüllerin gıda uygulamalarındaki performansını değerlendirmek amacıyla ayçiçek yağı ve mısırözü yağı model gıda ürünleri olarak belirlenmiştir. Bu yağlar, endüstriyel üretimde yaygın olarak kullanılan ve stabilite özellikleri ile oksidasyona karşı dirençleriyle bilinen yağlar arasındadır. Bu özellikler, ürünlerin raf ömrü ve kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, bu yağların mikrokapsüllerle işlenmesi ve bu işlem sonucunda ürün kalitesine olan etkisinin araştırılması gerekmektedir.

Şekil 4.53, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkılı) yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir.

Çalışmanın sonuçlarına göre, ayçiçek yağındaki indüksiyon süresindeki artış oranı %5.50 iken, mısırözü yağındaki artış oranı %29.07 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, erik kabuğu ekstraktı içeren mikropartiküllerin ayçiçek yağı ve mısırözü yağı üzerindeki olumlu etkisini göstermektedir. Mısırözü yağındaki daha fazla artışın nedenleri, mikrokapsüllerin mısırözü yağındaki diğer bileşenlerle etkileşimi ve mısırözü yağındaki stabilite artışına daha uygun bir ortam sağlaması olabilir. Ayrıca, mısırözü yağının doğal antioksidanları, mikrokapsüllerin oksidasyon sürecini engellemesine ve dolayısıyla ürünün stabilitesini artırmasına yardımcı olabilir.



Şekil 4.53: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırozü yağının, optimum koşullarda erik kabuğu ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.49, sırasıyla saf yağ numunelerinin ve optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerle işlenmiş yağ numunelerinin TFM içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.48: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen erik kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.041 ± 0.001	0.0410 ± 0.002
	İşlenmiş	0.055 ± 0.002	0.0670 ± 0.001
Mısırözü	İşlenmemiş	0.036 ± 0.001	0.0441 ± 0.001
	İşlenmiş	0.051 ± 0.001	0.0781 ± 0.001

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.49'dan elde edilen sonuçlar, mikrokapsül katkısının bitkisel yağlardaki kalite parametrelerinde belirgin iyileştirmelere neden olduğunu göstermektedir. Bu iyileştirmeler, model gıda ürünü olarak kullanılan bitkisel yağların hem toplam fenolik içeriğini hem de antioksidan aktivitesini arttırmıştır. İşlenmiş ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri saf ayçiçek yağına göre TFM açısından %34.15 oranında, antioksidan aktive açısından ise %63.41 oranında artmıştır.

İşlenmiş mısırözü yağının fonksiyonel özellikleri saf mısırözü yağına göre TFM açısından %41.67 oranında, antioksidan aktivite açısından ise %77.10 oranında artmıştır. Elde edilen bulgular, mikrokapsül teknolojisinin bitkisel yağlardaki kaliteyi artırmak için etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlara göre, mikrokapsül ilavesi ile mısırözü yağının hem kalite parametreleri (toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite) hem de indüksiyon süresi, ayçiçek yağına göre daha belirgin bir şekilde iyileşmiştir. Ayrıca kalite parametrelerindeki artışın indüksiyon süresindeki artış ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu durum, mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriğinin oksidatif stabiliteye katkıda bulunmasıyla açıklanabilir.

4.2.5. Vişne Kabuğu Fenoliklerinin Püskürtmeli Kurutma ile Mikroenkapsülasyonu

4.2.5.1. Proses Parametrelerinin Etkileri

Design-Expert yazılımında özel tasarımlar altında bulunan kombine tasarımların bir alt türü olan I-optimal tasarımı, maksimum EE, KV, AA ve TA verimleri elde etmek için mikrokapsül formülasyonunu ve proses faktörlerini optimize etmek amacıyla kullanılmıştır. Tablo 4.50, vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu sonucunda elde edilen mikrokapsüllerinin toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin sonuçlarını detaylı bir şekilde listeleyen bir deney tasarım matrisini sunmaktadır. I-optimal tasarım, Arap zıncığı ve

maltodekstrin gibi karışım bileşenlerinin oranını ve giriş sıcaklığı gibi faktörleri değerlendirerek, mikrokapsülasyon sürecinin performansını 19 ayrı deneyde analiz etmektedir.

Tablo 4.49: Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikrokapsülasyonu için I-optimal tasarımıyla oluşturulan deney sonuçları*.

Deney No	A: Arap zımkı (%, w/v)	B: Maltodekstrin (%, w/v)	C: Giriş Sıcaklığı (°C)	EE (%)	KV (%)	AA (mg-TEAC/g-KM)	TA (mg-C3G/g-KM)
1	2.5	7.5	145	62.33	68.25	5.371 ± 0.002	0.655 ± 0.004
2	5	5	160	68.29	63.92	5.204 ± 0.001	0.778 ± 0.004
3	2.5	7.5	130	57.86	73.96	5.291 ± 0.002	0.595 ± 0.003
4	7.5	2.5	145	71.76	68.47	5.254 ± 0.000	0.742 ± 0.004
5	5	5	190	67.13	73.24	4.916 ± 0.001	0.554 ± 0.003
6	10	0	130	63.55	68.03	4.942 ± 0.001	0.464 ± 0.005
7	0	10	160	57.21	73.62	5.354 ± 0.000	0.538 ± 0.003
8	0	10	190	62.97	66.79	5.254 ± 0.000	0.495 ± 0.005
9	2.5	7.5	175	63.78	67.82	5.180 ± 0.001	0.634 ± 0.005
10	5	5	130	64.03	71.77	5.315 ± 0.001	0.700 ± 0.001
11	7.5	2.5	175	69.82	68.27	5.128 ± 0.001	0.696 ± 0.004
12	10	0	190	55.87	62.50	5.170 ± 0.004	0.720 ± 0.005
13	10	0	160	79.71	76.28	5.414 ± 0.003	0.738 ± 0.004
14	0	10	160	59.63	74.05	5.343 ± 0.000	0.529 ± 0.002
15	10	0	160	83.17	76.60	5.367 ± 0.003	0.707 ± 0.005
16	5	5	190	63.88	72.93	4.865 ± 0.000	0.568 ± 0.001
17	5	5	160	71.43	64.23	5.252 ± 0.001	0.720 ± 0.001
18	0	10	130	53.87	76.43	5.060 ± 0.002	0.274 ± 0.002
19	5	5	160	68.86	64.36	5.185 ± 0.004	0.743 ± 0.002

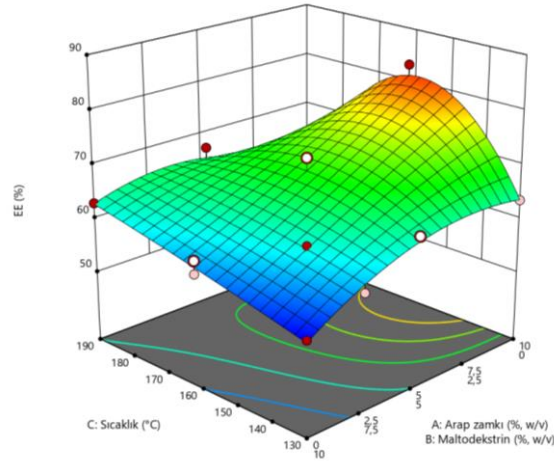
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.50’den görüldüğü üzere, mevcut kapsülleme sistemi için, karışım bileşeni ve seviyeleri ile prosesteki giriş hava sıcaklığına bağlı olarak EE değerleri %53.87 (18 no’lu çalışma) ile %83.17 (15 no’lu çalışma) arasında değişirken, KV değerleri ise %62.50 (12 no’lu çalışma) ile %76.60 (15 no’lu çalışma) arasında değişmektedir. Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikrokapsülasyonu konusunda literatür taraması yapıldığında, mevcut bilgilere göre bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle enkapsülasyon etkinliği bulgularımız, dondurarak kurutma ve iyonik jelasyon mikrokapsülleme yöntemleri gibi farklı yöntemlerin etkinliği ile karşılaştırılmıştır. Çilek ve diğ., maltodekstrin ve Arap zımkında dondurarak kurutulmuş vişne posası ekstraktının hazırlanma koşullarına bağlı olarak EE’nin %70 ile %92 arasında değiştiğini rapor etmiştir [34]. Luca ve diğ., dondurarak kurutulmuş vişne posası ekstraktı tozu için kaplama malzemesine bağlı olarak %85’in üzerinde EE verimi bildirmiştir [197].

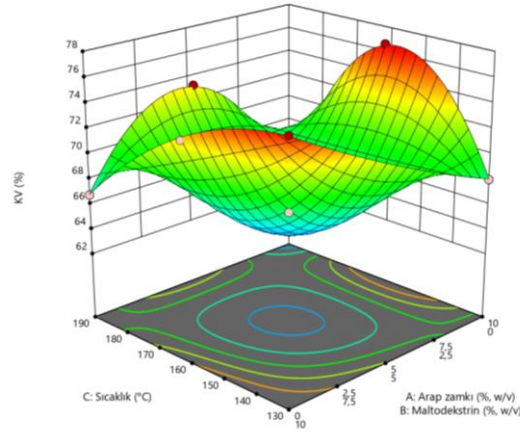
Tablo 4.50’de ayrıca mikrokapsüllerin DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin gram kurutulmuş mikrokapsül başına 4.865 ile 5.414 mg trolox eşdeğeri (mg-

TEAC/g-KM) arasında değiştiği, TA değerlerinin ise gram kurutulmuş mikroapsül başına 0.274 ile 0.778 mg siyanidin-3-glukozit (mg-C3G/g-KM) arasında değiştiği görülmektedir. ilek ve diğ., vişne posası ekstraktı içeren dondurarak kurutulmuş tozlar için kurutulmuş madde başına 7.09 ppm (ppm/g-KM) ve 458.25 mmol TEAC (mmol TEAC/g-KM) antioksidan aktivite rapor etmiştir [34]. Bulgumuz, kurutulmuş mikropartikül başına 15-17 ppm ile uyumluluk göstermektedir. Bu nedenle, vişne posası ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemi ile mikrokapslasyonunun verimliliğine ilişkin bulgularımız, literatürde rapor edilen verilerle uyumlu bulunmuştur.

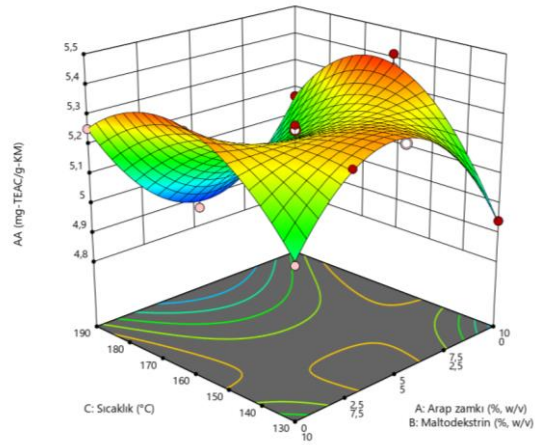
şekil 4.54, vişne kabuğu ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve proses faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin ieriğirindeki etkilerini göstermektedir.



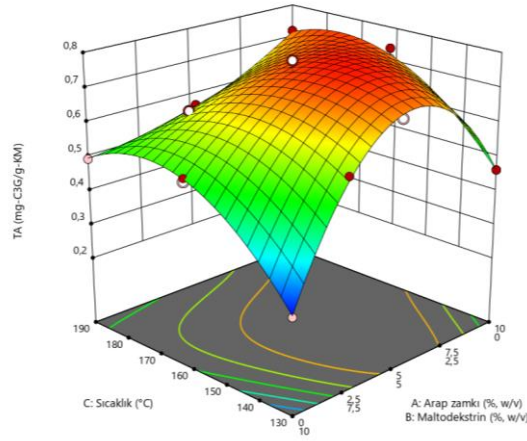
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.54: Vişne kabuğu ekstraktı içeren püskürtülerek kurutulmuş mikrokapsüllerin karışım bileşenlerinin (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve işlem faktörünün (giriş sıcaklığı) (a) enkapsülasyon etkinliği, (b) kurutma verimliliği (c) antioksidan aktivitesi ve (d) toplam antosiyanin içeriği üzerindeki etkileri.

Şekil 4.54a, karışım bileşenlerinin ve giriş hava sıcaklığının EE üzerindeki etkilerini göstermektedir. Sıcaklığın artırılması, EE'nin lehine bir etkiye sahiptir. Sabit karışım bileşenlerinde (Arap zamkı/maltodekstrin: 0/10), EE'nin sırasıyla 130 °C, 160 °C ve 190 °C için %53.87, %57.22 ve %62.97 olarak ölçüldüğü görülmüştür. Bu, aslında proses sırasında hızlı buharlaşmanın bir sonucudur. Sıcaklığın artmasıyla birlikte buharlaşmanın hızlanması, enkapsülasyon etkinliğini artırır çünkü aktif maddenin korunmasını sağlayan yüzey kabuğunun daha hızlı oluşmasını sağlar [70]. Duvar malzemesi olarak sadece Arap zamkı kullanıldığında, en yüksek EE görülürken (%83.17, 160 °C), sadece maltodekstrin kullanıldığında en düşük EE elde edilmiştir (%53.87, 130 °C). 130 °C sıcaklıkta, EE değerleri, 0/10, 2.5/7.5, 5/5 ve 10/0 Arap zamkı/maltodekstrin karışım oranlarına göre sırasıyla %53.87, %57.86, %64.03 ve

%63.55 olarak gözlemlenmiştir. Archaina ve diğ., hibiskus ekstraktının biyoaktif maddelerinin daha verimli mikrokapsülasyonu için maltodekstrinin Arap zankı ile birlikte kullanılmasını önermiştir [234]. Arap zankının, şeker zincirine bağı az miktarda protein içeren yapısı, ilgili kapsülün içerdigi aktif maddelerin serbest bırakılmasını kısıtlayarak yüksek kaliteli bir film oluşturmalarını sağılar [236].

Şekil 4.54b, karışım bileşenlerinin ve giriş hava sıcaklığının KV üzerindeki etkilerini göstermektedir. Şekil 4.54b'den görüldüğü üzere, sıcaklığın arttırılması KV'nin lehinedir. Sabit karışım bileşenlerinde (Arap zankı/maltodekstrin: 0/10), KV değerleri 130 °C, 160 °C ve 190 °C için sırasıyla %76.43, %73.62 ve %66.79 olarak ölçülmüştür. Verim, sıcaklığa bağılı olarak düzenli olarak azalmıştır. Ancak, Arap zankı ve maltodekstrin karışımı kullanıldığında KV değerleri sıcaklığa bağılı olarak artmıştır. Arap zankı/maltodekstrin ile mikrokapsüllenen örneklerin KV değeri, sıcaklığın 160 °C'den 190 °C'ye artmasıyla birlikte %63.92'den %73.26'ya yükselmiştir. Dolayısıyla püskürtmeli kurutma işleminin başarısında kaplama malzemesinin önemli bir role sahip olduğı sonucuna varılabilir. Bu proste Arap zankı ilavesi, yüksek ısıl işlemlerde dahi kuruma verimini arttırmaktadır. Corrêa-Filho ve diğ. tarafından β-karotenin Arap zankında mikrokapsüllemesi ile ilgili yapılan çalışmada da benzer bir eğilim rapor edilmiş olup; burada KV değeri, sıcaklık ve Arap zankı konsantrasyonuyla arttırılmıştır [277].

Şekil 4.54c, karışım bileşenlerinin ve giriş hava sıcaklığının, mikrokapsüllerin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Benzer şekilde, kaplama malzemesi etkisi bu sistemde de net bir şekilde görülmektedir. Bileşenlerin tek başına kaplama malzemesi olarak kullanılması durumunda, karışım halinde kullanılması durumuna göre antioksidan aktivitenin daha düşük olduğı gözlenmiştir. 130 °C sıcaklıkta, antioksidan aktivite değerleri, 0/10, 2.5/7.5, 5/5 ve 10/0 Arap zankı/maltodekstrin karışım oranlarına göre sırasıyla 5.06 mg-TEAC/g-KM, 5.29 mg-TEAC/g-KM, 5.31 mg-TEAC/g-KM ve 4.94 mg-TEAC/g-KM olarak gözlemlenmiştir. Diğer yandan, sıcaklığın antioksidan aktivite verimleri üzerinde olumlu bir etkisi olduğı gözlemlenmiştir. Corrêa-Filho ve diğ., artan sıcaklığın hızlı kabuk oluşumu yoluyla antioksidatif aktif bileşenlerin korunmasını sağladığını ve böylece mikrokapsüllü yapıların antioksidan aktivitesini artırdığını rapor etmişlerdir [70].

Şekil 4.54d karışım bileşenlerinin ve giriş hava sıcaklığının TA verimleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. Antioksidan aktivite için elde edilen üç boyutlu grafiklerdekine (Şekil 4.54c) benzer giriş sıcaklığı ve kaplama malzemesi etkileri gözlemlenmiştir. Biyoaktif

antosiyeninlerin partiküllerin antioksidan aktivitesine katkı sağladığı göz önüne alındığında, bu sonuç kaçınılmazdır. Dolayısıyla, bu sonuç çalışmanın tutarlılığını gösterdiği için önemlidir.

4.2.5.2. Modelleme Çalışması

Vişne kabuğunun püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu prosesinde mikrokapsülleme formülasyonu, iki karışım bileşeni (Arap zıkkı/maltodekstrin) ve sayısal bir proses faktörü (giriş sıcaklığı) ile kombine tasarımların bir alt türü olan I-optimal tasarım yaklaşımı kullanılarak modellenmiş ve optimize edilmiştir. Bu yaklaşım, mikrokapsülleme sürecindeki çeşitli değişkenlerin birbiriyle etkileşimlerini ve en uygun mikrokapsül formülasyonlarını belirlemek için istatistiksel ve matematiksel teknikleri bir araya getirir.

Denklem (4.25)-(4.28)'deki modeller, mikrokapsülleme sürecindeki proses parametreleri ile yanıtlar arasındaki ilişkiyi nicel olarak değerlendirmek için kullanılır ve en uygun parametre kombinasyonlarını belirlemeye yardımcı olur.

$$EE = 81.13 A + 58.47 B - 3.18 AB - 3.95 AC + 4.71 BC + 2.69 ABC - 21.43 AC^2 - 0.3221 BC^2 + 23.93 ABC^2 \quad (4.25)$$

$$KV = 76.48 A + 73.83 B - 43.63 AB - 2.80 AC - 4.77 BC + 17.86 ABC - 11.21 AC^2 - 2.22 BC^2 + 59.64 ABC^2 \quad (4.26)$$

$$AA = 5.38 A + 5.37 B - 0.5990 AB + 0.1165 AC + 0.0915 BC - 1.30 ABC - 0.3265 AC^2 - 0.2013 BC^2 + 0.6093 ABC^2 \quad (4.27)$$

$$TA = 0.7181 A + 0.5364 B + 0.4656 AB + 0.1263 AC + 0.1098 BC - 0.7777 ABC - 0.1287 AC^2 - 0.1481 BC^2 + 0.1199 ABC^2 \quad (4.28)$$

Modeller proses parametrelerinin belirli seviyeleri için yanıtları tahmin etmek üzere kodlanmış faktörlerle ilişkilendirilmiştir. Faktör katsayıları ile kodlanmış denklemler, her bir faktörün oransal etkisini değerlendirmek için kullanılır. Denklem (4.25)-(4.28)'de yer alan polimer çözeltisindeki Arap zıkkı konsantrasyonu (A, % w/v), polimer çözeltisindeki maltodekstrin konsantrasyonu (B, % w/v) ve püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı (C, °C) değerleri, kapsülleme prosesinin bağımsız değişkenlerini temsil etmektedir. Ayrıca, bu denklemlerdeki toplam fenolik madde açısından enkapsülasyon etkinliği (EE, %), kurutma verimliliği (KV, %), antioksidan aktivite (AA, mg-TEAC/g-KM) ve toplam antosiyenin içeriği (TA, mg-C3G/g-KM) gibi bağımlı değişkenler, optimize edilerek maksimum düzeye çıkarılmıştır.

Tablo 4.51, vişne kabuğu ekstraktının karışım bileşenlerine (Arap zamkı ve maltodekstrin) ve giriş sıcaklığına bağlı olarak püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonu için sırasıyla EE_{TFM}, KV ve AA değerlerine yönelik ANOVA test sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.50: Vişne kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

	Kaynak	Karelerin Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Karesi	F-değeri	p-değeri	
EE	Model	1017.53	8	127.19	44.15	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	392.06	1	392.06	136.10	< 0.0001	
	AB	1.19	1	1.19	0.4139	0.5344	
	AC	32.54	1	32.54	11.30	0.0072	
	BC	47.62	1	47.62	16.53	0.0023	
	ABC	0.8288	1	0.8288	0.2877	0.6034	
	AC ²	467.94	1	467.94	162.44	< 0.0001	
	BC ²	0.1080	1	0.1080	0.0375	0.8503	
	ABC ²	31.85	1	31.85	11.06	0.0077	
	Kalıntı	28.81	10	2.88			
	Uyum Eksikliği	9.01	5	1.80	0.4552	0.7960	önemsiz
	Saf Hata	19.80	5	3.96			
	Kor Toplam	1046.33	18				
CV: % 2.59		R ² =0.9725		R ² _a =0.9504		R ² _t =0.8451	
KV	Model	376.73	8	47.09	856.70	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	8.94	1	8.94	162.56	< 0.0001	
	AB	224.19	1	224.19	4078.57	< 0.0001	
	AC	16.41	1	16.41	298.58	< 0.0001	
	BC	48.82	1	48.82	888.06	< 0.0001	
	ABC	36.60	1	36.60	665.87	< 0.0001	
	AC ²	127.90	1	127.90	2326.72	< 0.0001	
	BC ²	5.14	1	5.14	93.49	< 0.0001	
	ABC ²	197.87	1	197.87	3599.66	< 0.0001	
	Kalıntı	0.5497	10	0.0550			
	Uyum Eksikliği	0.2558	5	0.0512	0.8703	0.5587	önemsiz
	Saf Hata	0.2939	5	0.0588			
	Kor Toplam	377.28	18				
CV: %0.3346		R ² =0.9985		R ² _a =0.9974		R ² _t =0.9704	
AA	Model	0.4489	8	0.0561	40.87	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.0066	1	0.0066	4.83	0.0526	
	AB	0.0423	1	0.0423	30.78	0.0002	
	AC	0.0283	1	0.0283	20.64	0.0011	
	BC	0.0180	1	0.0180	13.10	0.0047	
	ABC	0.1941	1	0.1941	141.38	< 0.0001	
	AC ²	0.1086	1	0.1086	79.06	< 0.0001	
	BC ²	0.0422	1	0.0422	30.74	0.0002	
	ABC ²	0.0207	1	0.0207	15.04	0.0031	
	Kalıntı	0.0137	10	0.0014			
	Uyum Eksikliği	0.0089	5	0.0018	1.82	0.2637	önemsiz
	Saf Hata	0.0049	5	0.0010			
	Kor Toplam	0.4626	18				
CV: % 0.7121		R ² =0.9703		R ² _a =0.9466		R ² _t =0.7828	

Tablo 4.51 (devamı): Vişne kabuğu ekstraktından püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği değerlerine ilişkin varyans bulgularının analizi.

TA	Model	0.2883	8	0.0360	102.01	< 0.0001	önemli
	⁽¹⁾ Lineer Karışım	0.0839	1	0.0839	237.58	< 0.0001	
	AB	0.0255	1	0.0255	72.29	< 0.0001	
	AC	0.0333	1	0.0333	94.27	< 0.0001	
	BC	0.0259	1	0.0259	73.37	< 0.0001	
	ABC	0.0694	1	0.0694	196.48	< 0.0001	
	AC ²	0.0169	1	0.0169	47.80	< 0.0001	
	BC ²	0.0228	1	0.0228	64.66	< 0.0001	
	ABC ²	0.0008	1	0.0008	2.26	0.1634	
	Kalıntı	0.0035	10	0.0004			
	Uyum Eksikliği	0.0012	5	0.0002	0.5147	0.7582	önemsiz
	Saf Hata	0.0023	5	0.0005			
	Kor Toplam	0.2918	18				
	CV: %3.01	$R^2=0.9879$		$R^2_a=0.9782$		$R^2_t=0.8057$	

Model terimlerinin anlamlılığını değerlendirmek için F ve p-değerleri kullanılmıştır. ANOVA analizi sonuçlarına göre, tüm yanıt değişkenleri için türetilen modellerin istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.0001$). Bu bulgu, incelenen bağımsız değişkenlerden en az birinin yanıt değişkenleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu da, türetilen modellerin verilere uyum sağladığını ve bağımsız değişkenlerin yanıt değişkenlerindeki varyasyonun büyük bir kısmını açıkladığını göstermektedir. Ayrıca, AA yanıt değişkeni dışında, lineer karışım terimlerinin de istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). AA yanıt değişkeni için lineer karışım terimlerinin p değerinin 0.05'den büyük olması, lineer karışım terimlerinin AA üzerindeki etkisinin önemsiz olduğunu ve AA'nın değişkenliğini açıklamada belirleyici bir faktör olmadığını göstermektedir.

EE yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, A, B, AC, BC, AC² ve ABC² model terimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, 0.1'den büyük p değerlerinin anlamlı olmayan model terimlerini ifade ettiği göz önüne alındığında, AB, ABC ve BC² model terimlerinin mevcut püskürtmeli kurutmalı mikrokapsülasyon sisteminin EE yanıt değişkeni üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir.

KV yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, bütün model terimlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir ($p<0.0001$). Benzer şekilde, AA yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre, her model teriminin $p<0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

TA yanıt değişkeni üzerinde yapılan analiz sonuçlarına göre ise, ABC^2 ($p>0.1$) model terimi haricinde her terimin istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p<0.0001$).

Üretilen modellerin EE, KV, AA ve TA yanıt değişkenleri için güvenilirliğini anlamak amacıyla CV, R^2 , ayarlanmış R^2 ve tahmini R^2 değerleri gibi uyum istatistikleri de kullanılmıştır. Uyum eksikliği değerleri, modellerin gözlenen verilere uyum sağlama yeteneğini değerlendirir. Anlamlı olmayan uyum eksikliği değerleri ($p>0.05$), modelin verilere uygun olduğunu ve tatmin edici bir uyum sağladığını göstermektedir.

EE, KV, AA ve TA için türetilen modellerin anlamlı p değerleri ($p<0.0001$), anlamlı olmayan uyum eksikliği değerleri ($p>0.05$), yüksek ayarlanmış R^2 ($R^2_a>0.94$) değerleri ve kabul edilebilir tahmini R^2 ($R^2_t>0.78$) değerleri ile birlikte yüksek R^2 değerlerinin ($R^2>0.97$) olması, mevcut kapsülleme sisteminin etkin bir şekilde modellendiğini ve sistemin davranışını tahmin etmede güvenilir olduğunu göstermektedir. Seçilen modeller, verilere uyum sağlamak için ayarlanmış R^2 değerini maksimize etmiştir ($R^2_a>0.94$). Ayrıca, R^2_a ile R^2_t arasındaki farkın 0.2'den az olması, modellerin gerçek verilere ve bu veriler üzerinden yapılan tahminlere uyum sağladığını göstermektedir. Veri setindeki ölçümlerin değişkenliğini, ortalama değerine göre değerlendirmek için kullanılan CV değerleri, tüm modeller için %10'un altında bulunmuştur. Bu durum, modellerin tahmin yeteneğinin yüksek olduğunu ve veri setinin homojen olduğunu göstermektedir.

4.2.5.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma yöntemiyle mikroenkapsülasyonu sürecinde, Arap zıkkı ve maltodekstrin gibi karışım bileşenleri ile giriş sıcaklığı koşullarının farklı kombinasyonları arasından en uygun formülasyonun belirlenmesi için bir optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyon çalışmasının amacı, mevcut sistem için enkapsülasyon verimliliğini, kurutma verimliliğini, antioksidan aktivitesini ve toplam antosiyanin içeriğini maksimum düzeye çıkaracak mikrokapsül formülasyonunu belirlemektir. Tablo 4.52'de tüm yanıt değişkenlerini maksimize eden optimum püskürtmeli kurutma koşulları verilmiştir. Design-Expert yazılımı, maksimum EE (%80.99), KV (%76.39), AA (5.382 mg-TEAC/g-KM) ve TA (0.722 mg-C3G/g-KM) elde etmek için yaklaşık 161 °C sıcaklık ve duvar malzemesi olarak sadece Arap zıkkı (%10) kullanılması durumunda optimum koşulların elde edilebileceğini göstermiştir. Ayrıca, model denklemlerinden elde edilen tahmin verileri ile gerçek veriler arasındaki farkın (kalıntı) %3'ten az olması, elde edilen model denklemlerinin uygunluğunu doğrulamaktadır.

Tablo 4.51: Vişne kabuğu ekstraktının püskürtmeli kurutma ile mikroenkapsülasyonunda maksimum enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin içeriği için optimum koşullar*.

Optimum Koşullar			Yanıt	Beklenen Sonuç	DeneySEL Sonuç	Hata Oranı (%)
A (%, w/v)	B (%, w/v)	C (°C)				
10.000	0.000	160.950	EE (%)	80.99	79.95	1.28
			KV (%)	76.39	75.61	1.02
			AA (mg-TEAC/g-KM)	5.382	5.414	0.59
			TA (mg-C3G/g-KM)	0.722	0.738	2.22

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

4.2.5.4. Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

Optimum proses koşulları belirlendikten sonra, bu koşullarda mikrokapsüllerin çeşitli fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri analiz edilmiştir. Bu analizler, mikrokapsüllerin nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ve Carr indeksi gibi fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra, SEM ile yapılan morfolojik incelemeleri ve partikül boyutu dağılımı gibi faktörleri kapsamaktadır.

Tablo 4.53, vişne kabuğu ekstraktının Tablo 4.52’de verilen optimum koşullarda mikroenkapsülasyonu sonucu elde edilen mikrokapsüllerin nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük (%), yığın yoğunluğu (kg/m³), sıkıştırılmış yığın yoğunluk (kg/m³) ve Carr indeksi gibi bazı fizikokimyasal özelliklerini detaylı bir şekilde sunmaktadır.

Tablo 4.52: Püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerin fizikokimyasal özellikleri*.

Nem (%)	Su Aktivitesi	Çözünürlük (%)	Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluk (kg/m ³)	Carr indeksi (%)
4.20 ± 0.28	0.17 ± 0.00	97.00 ± 0.02	312.03 ± 5.38	469.84 ± 5.53	33.59 ± 0.03

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

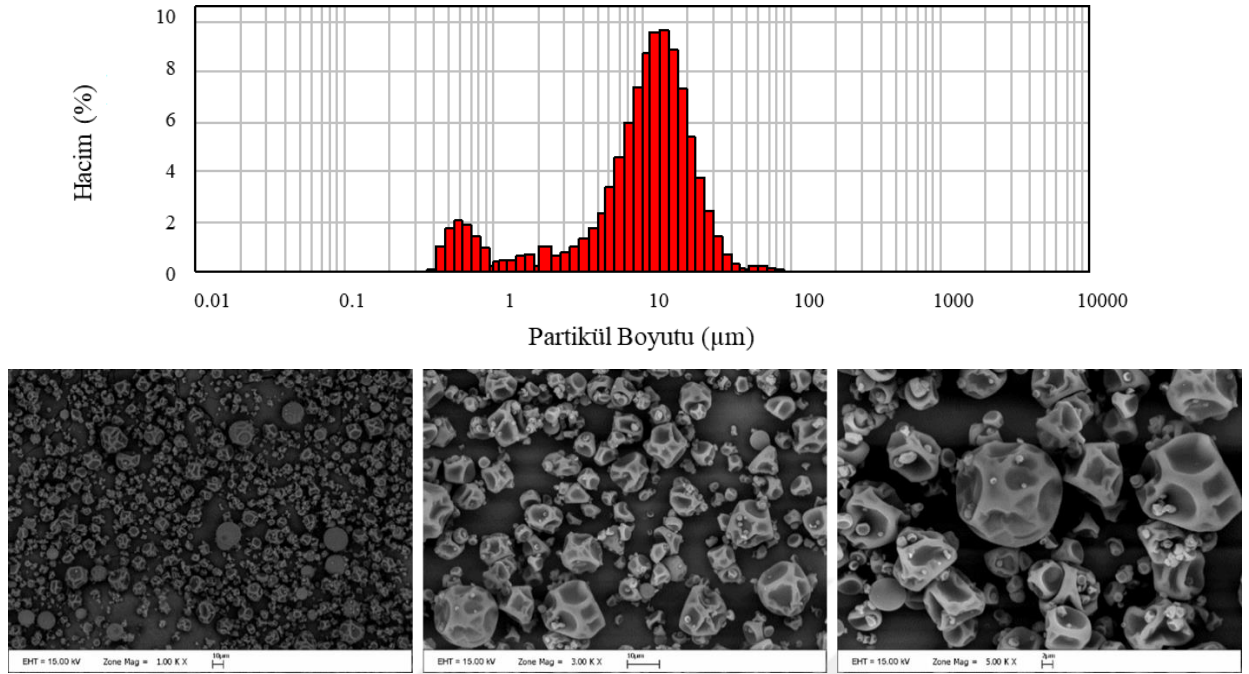
Kurutma verimliliği, üretim maliyetlerini ve verimliliği önemli ölçüde etkilediği için püskürtmeli kurutma prosesinde çok önemli bir faktördür. Optimum noktada üretilen numunelerin kurutma verimliliği %75.61 olarak belirlenmiştir. Tipik olarak, ürünlerin camsı geçiş sıcaklığını arttırmak için büyük miktarlarda taşıyıcı malzemeler eklenir. Eklenen bu taşıyıcı malzeme, yapışkanlığı doğrudan etkilediği için önemlidir [222]. Bu çalışmada, optimum koşullar duvar malzemesi olarak %10 Arap zatkı oranı (Arap zatkı/maltodekstrin:10/0, ~ 161°C) kullanılması durumunda elde edilmiştir. Farklı oranlarda taşıyıcı malzeme kombinasyonlarının kullanılmasının kurutma verimliliğini doğrudan etkileyebileceğine dikkat edilmelidir.

Tablo 4.53'ten görüldüğü üzere, optimum koşullarda üretilen örneklerin nem içeriği 4.20 ± 0.28 , su aktivitesi ise 0.17 ± 0.00 olarak belirlenmiştir. Püskürtme kurutma ile elde edilen toz numunelerin nem seviyeleri genellikle %5'in altında kalmıştır, bu da uzun süreli depolama için mikrobiyolojik açıdan güvenli olduğunu göstermektedir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen ürünlerde mikrobiyolojik ve kimyasal güvenlik açısından 0.3'ün altında su aktivite değeri istenmektedir. Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen tozların nem ve su aktivite değerleri, kullanılan taşıyıcı malzemeye, taşıyıcı malzemelerin kombinasyonuna ve oranına, giriş sıcaklığına, atomizasyon hızına ve besleme akış hızına bağlı olarak değişebilmektedir [222].

Püskürtmeli kurutma teknolojisinde çözünürlük, ürünün kullanılabilirliği ve lezzet kalitesi açısından kritik öneme sahiptir. İyi çözünen bir ürün, tüketicilerin ürünü daha kolay ve etkili bir şekilde kullanmasını sağlar. Özellikle sıvı ürünler toz forma dönüştürüldüğünde, bu toz formundaki ürünlerin kolayca sıvı forma yeniden dönüştürülebilme yeteneği önemlidir. Ayrıca çözünürlük, ürünün tat, aroma ve diğer duysal özelliklerinin korunması açısından da önemlidir. Bu nedenle püskürtmeli kurutma teknolojisinde çözünürlüğün optimize edilmesi, ürün kalitesi ve tüketici memnuniyeti açısından büyük önem taşımaktadır. Optimum noktada elde edilen numunenin çözünürlük değeri 97.00 ± 0.02 olarak belirlenmiştir ve bu da oldukça başarılı bir sonuca işaret etmektedir. Jafari ve diğ., taşıyıcı malzeme seçiminin ve giriş sıcaklığının çözünürlüğü önemli ölçüde etkilediğini, bu etkinin %95'in üzerinde çözünürlük elde etme başarısıyla kanıtlandığını belirtmektedir [245].

Bununla birlikte, püskürtme kurutma yöntemi ile elde edilen toz numunelerinin partikül boyutu, nihai ürünün duysal ve dokusal özelliklerini doğrudan etkilediği için kritik bir parametredir. Ek olarak, bir gıda tozunun yığın ve sıkıştırılmış yoğunlukları, gözenekliliği ve akışkanlığı gibi yığın özellikleri, hem parçacık boyutundan hem de dağılımından büyük ölçüde etkilenmektedir. Optimum koşullarda üretilen tozun yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluğu ve Carr indeksi sırasıyla $312.03 \pm 5.38 \text{ kg/m}^3$, $469.84 \pm 5.53 \text{ kg/m}^3$ ve 33.59 ± 0.03 olarak belirlenmiştir.

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mikroyapısal özellikleri SEM analizi ile incelenmiştir. Şekil 4.55'te, vişne kabuğundan elde edilen aktif maddeleri içeren püskürtmeli kurutma yöntemi ile elde edilen mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyut dağılımı sunulmuştur.



Şekil 4.55: Vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin, optimum koşullarda farklı ölçeklerde elde edilmiş SEM görüntüleri ve partikül boyutu dağılımı.

Mikropartiküller, işleme, taşıma ve depolama özelliklerini etkileyen kritik bir fiziksel parametre olan partikül boyutundan önemli ölçüde etkilenmektedir. Parçacık boyutunun azaltılması, çevresel faktörlere maruz kalan yüzey alanının artmasına ve dolayısıyla hassas bileşiklerin bozunmasının hızlanmasına neden olur. %10, %50 ve %90 kümülatif hacim ile eşdeğer hacimsel çapları sırasıyla d_{10} , d_{50} ve d_{90} terimleri ile temsil edilir. $D_{[4,3]}$, bir partikül dağılımındaki partiküllerin hacimlerinin ağırlık ortalamasını, $D_{[3,2]}$ ise yüzey alanlarının ağırlık ortalamasını ifade etmektedir. Toz ürünlerin parçacık boyutu, d_{10} , d_{50} , d_{90} , hacim ağırlıklı ortalama çap, yüzey ağırlıklı ortalama çap gibi parametrelerle belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen örneklerin d_{10} , d_{50} , d_{90} , $D_{[4,3]}$ ve $D_{[3,2]}$ ve açıklık değerleri sırasıyla Tablo 4.54’te verilmiştir.

Tablo 4.53: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerin partikül boyutu ölçümleri*.

d_{10} (μm)	d_{50} (μm)	d_{90} (μm)	$D_{[4,3]}$ (μm)	$D_{[3,2]}$ (μm)	Açıklık
1.39 ± 0.05	11.55 ± 0.13	22.81 ± 0.70	12.98 ± 0.87	3.97 ± 0.04	1.85 ± 0.04

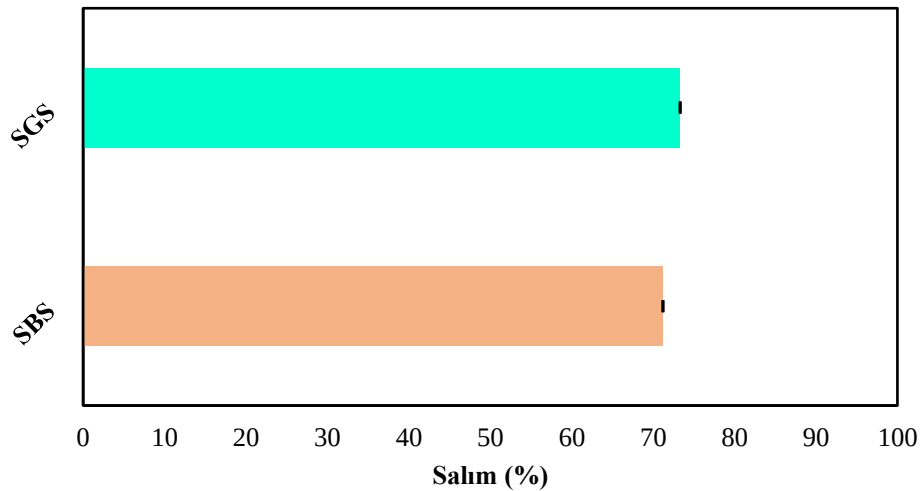
*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen ürünler genel olarak tekdüzelik göstermez. Partikül boyutu dağılımına sahip bu tür sistemlerde, daha küçük partiküller genellikle daha büyük partiküllerin arasındaki boşlukları doldurur, bu da yığın yoğunluğunun artmasına neden

olur. Bu bulgular, püskürtmeli kurutmanın ağırlıklı olarak daha küçük parçacıklar ürettiğini göstermektedir. Ayrıca, daha küçük partikül boyutları, tozun çözünürlüğünün ve akışkanlığının azalmasıyla ilişkilidir [278, 279]. Şekil 4.55'teki SEM görüntülerinden görüldüğü gibi, partiküller ağırlıklı olarak küresel, pürüzsüz ve homojen bir yapıya sahiptir. Ancak, homojen bir yapı sağlanmasına rağmen, bazı mikropartiküllerde büzülme belirtileri gözlemlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda kurutma yapıldığında, yüksek sıcaklıklarda kurutmaya kıyasla daha belirgin bir büzülme derecesinin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, ortalama partikül boyutunun, daha yüksek sıcaklıklarda elde edilen malzemenin boyutundan daha küçük olma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir [280].

4.2.5.5. Mikrokapsüllerin Gastrointestinal Sindirimde Salım Davranışı

Genellikle gıda ürünlerinin sindirimi ve emilimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için laboratuvar ortamında *in vitro* gastrointestinal testleri uygulanmaktadır. Bu testler için simüle edilmiş gastrik (mide) sıvısı ve simüle edilmiş bağırsak (intestinal) sıvısı hazırlanmıştır. SGS, mide içindeki asit ortamını simüle etmek için kullanılırken, SBS bağırsaklardaki sindirim ve emilim koşullarını simüle etmek için kullanılmaktadır. Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında (Arap zamkı/maltodekstrin: 10/0, ~161 °C giriş sıcaklığı) üretilen mikrokapsüllerin SGS ve SBS ortamlarındaki salım davranışı incelenmiştir. Şekil 4.56, optimum koşullar altında elde edilen vişne kabuğu mikropartiküllerinden TFM'nin sırasıyla SGS ve SBS ortamlarına salımını göstermektedir.



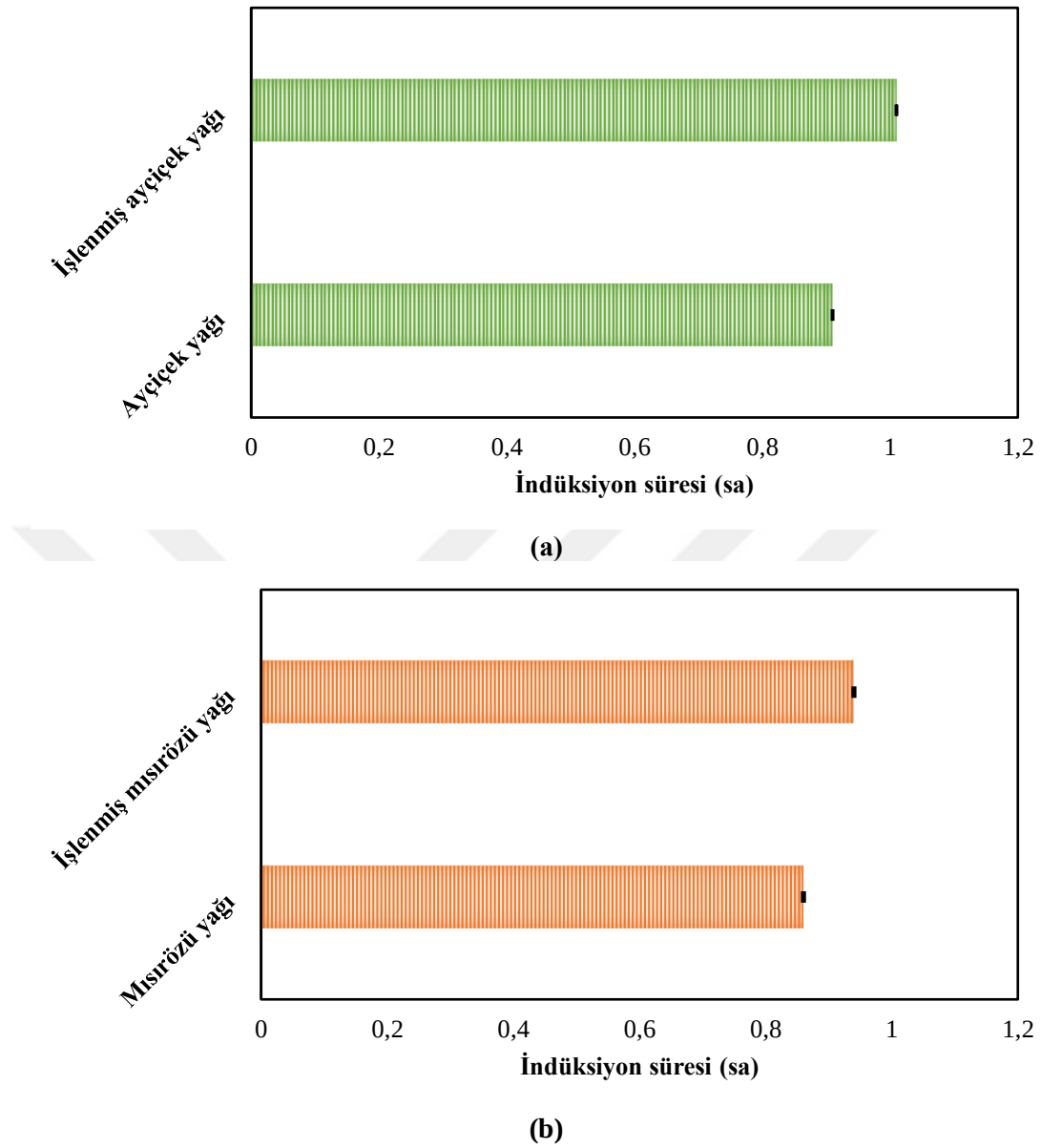
Şekil 4.56: Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında vişne kabuğu ekstraktından elde edilen aktif maddeleri içeren mikrokapsüllerden SGS ve SBS içerisine TFM salımı. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.56’da görüldüğü üzere, optimum koşullarda üretilen vişne kabuğu mikrokapsüllerinden TFM salımı, simüle edilmiş gastrik sıvıda (SGS, pH=1.5) %73.31, simüle edilmiş bağırsak sıvısında (SBS, pH=7.4) ise %71.21 olarak ölçülmüştür. Genellikle, biyoaktif materyallerin mideden bütün olarak parçalanmadan geçip ince bağırsağa ulaşması beklenir, bu nedenle mide sisteminde düşük *in vitro* salım oranları beklenir. Ancak, bulgularımız, biyoaktif fenolik maddenin önemli bir kısmının (%73.31’inin) SGS’ ye (pH=1.5) salındığını göstermektedir. Benzer şekilde, Jia ve diğ., yapmış oldukları çalışmada kapsüllenmiş balık yağının %80’den fazlasının SGS’ye salındığını gözlemlemiştir [281]. Bernal-Millán ve diğ., maltodekstrin ile kaplanmış mikrokapsüllerden kekik polifenollerinin %91.38’inin SGS’ye salındığını rapor etmiştir [249]. Bu durum, salıma karşı direncin, kaplama matrisinin içeriği, mukavemeti ve sindirim enzimlerine karşı olan duyarlılığı gibi özellikleriyle de ilişkili olmasıyla açıklanabilir. Çekirdek-kabuk yapısının, aktif maddenin gastrointestinal sıvı sistemine karşı korunmasında önemli bir role sahip olduğu sonucuna varılabilir [282].

4.2.5.6. Model Gıda Ürünlerinin Stabilitesinin ve Biyoaktif Özelliklerinin İyileştirilmesi

Optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen mikrokapsüllerin, ayçiçek yağı ve mısırözü yağı gibi model gıda ürünlerinde uygulanabilirliği ve bu gıda ürünlerinin oksidatif stabilitesine olan etkisi incelenmiştir. Mikrokapsüllerin gıda katkı maddesi olarak etkinliği, zenginleştirilmiş yağ ürünlerinin indüksiyon süresi, TFM içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi çeşitli kalite parametreleri ölçülerek değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın temel amacı, yaygın olarak tüketilen ve raf ömrü kısa olan bitkisel yağların, mikrokapsülleme teknolojisinin kullanımıyla oksidatif stabilitesinin ve biyoaktif özelliklerinin iyileştirilmesini sağlamaktır.

Şekil 4.57, sırasıyla işlenmemiş (saf) ve işlenmiş (mikrokapsül katkılı) yağ numunelerinin oksidatif stabilitesini ölçen indüksiyon sürelerini göstermektedir.



Şekil 4.57: (a) Ayçiçek yağı ve (b) mısırözü yağının, optimum koşullarda vişne kabuğu ekstraktı içeren püskürtmeli kurutma yöntemi elde edilen mikrokapsüllere bağlı olarak indüksiyon süresi değişimi. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Mikrokapsül katkısının, hem ayçiçek yağı hem de mısırözü yağı için benzer oranda oksidatif stabilite artışına neden olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 4.57’de görüldüğü üzere, mikrokapsül katkılı ayçiçek yağının indüksiyon süresi saf ayçiçek yağına göre %10.99 oranında artış gösterirken, mikrokapsül katkılı mısırözü yağının indüksiyon süresi ise saf mısırözü yağına göre %9.30 oranında artmıştır. Bu bulgular, mikrokapsül katkısının yağların oksidasyona karşı direncini artırdığına işaret etmektedir. Mikrokapsüller, yağların dış etkenlere karşı korunmasını sağlayarak oksidatif bozunmayı azaltabilir ve dolayısıyla ürünlerin raf ömrünü uzatabilir. Ayçiçek yağı ve mısırözü yağı, farklı yağ asitlerine sahip olduklarından farklı oksidasyon

özelliklerine sahiptirler. İndüksiyon süresi artışı bulgularındaki hafif farklılık, bu yağların bileşimi ve özelliklerinden veya mikrokapsül katkısının her iki yağda farklı etkiler göstermesinden kaynaklanabilir.

Tablo 4.55, sırasıyla saf yağ numunelerinin ve optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsüllerle işlenmiş yağ numunelerinin TFM içeriğini ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Tablo 4.54: Bitkisel yağlarda optimum püskürtmeli kurutma koşullarında elde edilen vişne kabuğu ekstraktı içeren mikrokapsül katkısının TFM ve ABTS serbest radikal yakalama aktivitesi üzerindeki etkisi*.

Bitkisel Yağ		TFM (mg-GAE/g-yağ)	Antioksidan aktivite (mg-TEAC/g-yağ)
Ayçiçek	İşlenmemiş	0.041 ± 0.002	0.0410 ± 0.002
	İşlenmiş	0.072 ± 0.001	0.0740 ± 0.001
Mısırözü	İşlenmemiş	0.036 ± 0.001	0.0441 ± 0.001
	İşlenmiş	0.051 ± 0.001	0.0574 ± 0.001

*Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 4.55'ten elde edilen sonuçlar, mikrokapsül katkısının bitkisel yağların indüksiyon süresini arttırmasının yanı sıra TFM içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özelliklerinde de önemli artışlara neden olduğunu göstermektedir. Mikrokapsül katkılı ayçiçek yağının fonksiyonel özellikleri, saf ayçiçek yağına kıyasla TFM içeriği açısından %75.61 oranında, antioksidan aktivite açısından ise %80.49 oranında artmıştır. Benzer şekilde, mikrokapsül katkılı mısırözü yağının fonksiyonel özellikleri, saf mısırözü yağına kıyasla TFM içeriği açısından %41.67 oranında, antioksidan aktivite açısından ise %30.16 oranında artmıştır.

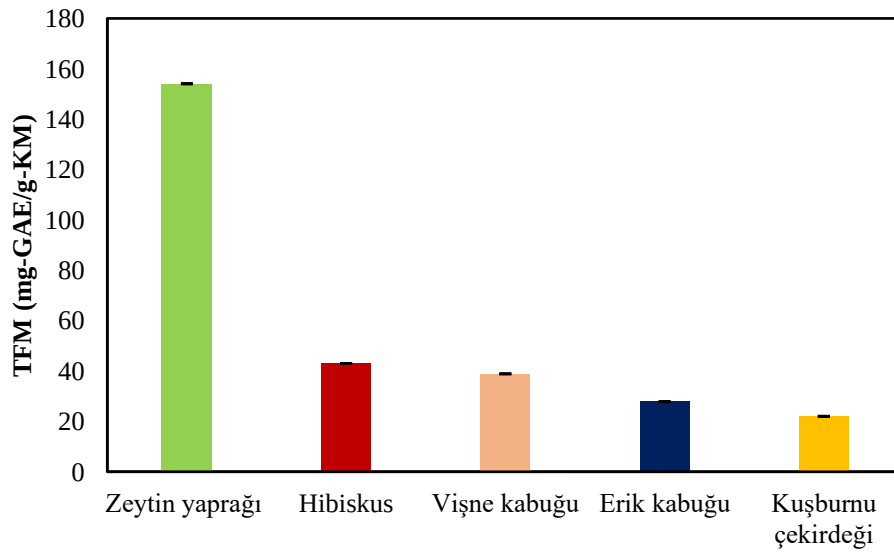
Her iki bitkisel yağ için de mikrokapsül katkısı ile TFM içeriğindeki artışın antioksidan aktivitedeki artışla benzerlik göstermesi beklenen bir sonuçtur. Mikrokapsüllerin içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklere sahip olması, yağların antioksidan aktivitesinin artmasına katkıda bulunabilir. Dolayısıyla, mikrokapsüllerin yağlara eklenmesi, hem TFM içeriğini artırarak hem de antioksidan aktiviteyi yükselterek yağların besinsel değerini ve dayanıklılığını artırabilir. Bu artış, yağların oksidatif stabilitesini artırarak indüksiyon süresindeki artışla ilişkilendirilebilir.

4.3. KARŞILAŞTIRMALI SONUÇLAR

4.3.1. Ekstraktların Fenolik İçeriklerinin Karşılaştırılması

Aktif madde kaynağı olarak kullanılan materyallerin seçiminde daha önce yapılmış olan çalışmalarımız [283–286] dikkate alınmış olduğu gibi, dünyada en çok tüketilen ve ayrıca ülkemizde de üretimi yüksek oranda yapılan bazı zirai ürünlerin atıkları tercih edilmiştir. Bu atıklar toplam meyve ağırlığının %25 ile %40'ı arasında bir değere sahiptir. Özellikle meyvenin kendisi biyoaktif maddeler açısından zengin olduğundan kabuğunun antioksidanlar açısından zengin olduğuna inanılmaktadır [287]. Bu atıkların antosiyaninler ve antioksidanlarca zengin olduğu yapılmış olan pek çok çalışma (*in vivo* ve/veya *in vitro*) ile raporlanmıştır.

İlk adımda aktif maddelerce zengin ekstraktlar aynı koşullarda sulu alkol çözeltisi ile OÇE kullanılarak ekstrakte edilmiştir. İlgili maddelerin içeriklerindeki fenolik madde seviyeleri Şekil 4.58’de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

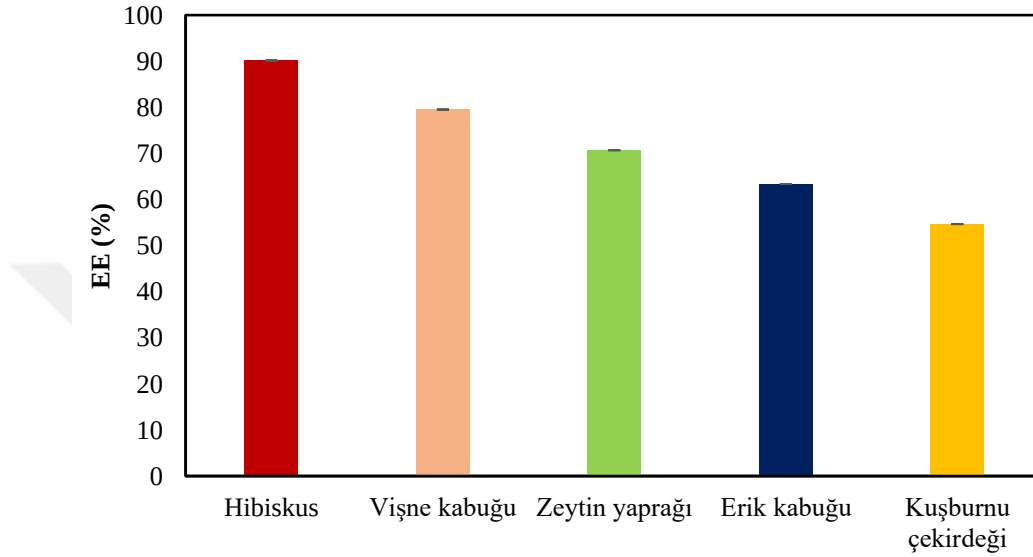


Şekil 4.58: Aktif madde kaynaklarının toplam fenolik madde seviyelerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.58’ de görüldüğü gibi en yüksek fenolik madde miktarı zeytin yaprağına aittir. Bunu hibiskus ekstraktı takip etmektedir (zeytin yaprağı ekstraktının yaklaşık dörtte biri). Bunu yine antosiyaninlerce zengin vişne kabuğu ve hemen ardından erik kabuğu takip etmektedir. En düşük TFM içeriği ise kuşburnu çekirdeği ekstraktına aittir. Zeytin yaprağı kuşburnu çekirdeğinin sahip olduğu TFM’nin 7 katı kadar daha yüksek oranda TFM içermektedir.

4.3.2. İyonik Jelasyon Verimlerinin Karşılaştırılması

Bu tez çalışması boyunca 5 farklı iyonik jelasyon sistemi incelenmiştir. Her bir sistemde farklı bir aktif madde kaynağı kullanılmıştır. Her bir sistem YYM kullanılarak Box-Behnken tasarımı ile optimize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen aljinat bazlı mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinlikleri Şekil 4.59’da gösterilmiştir.

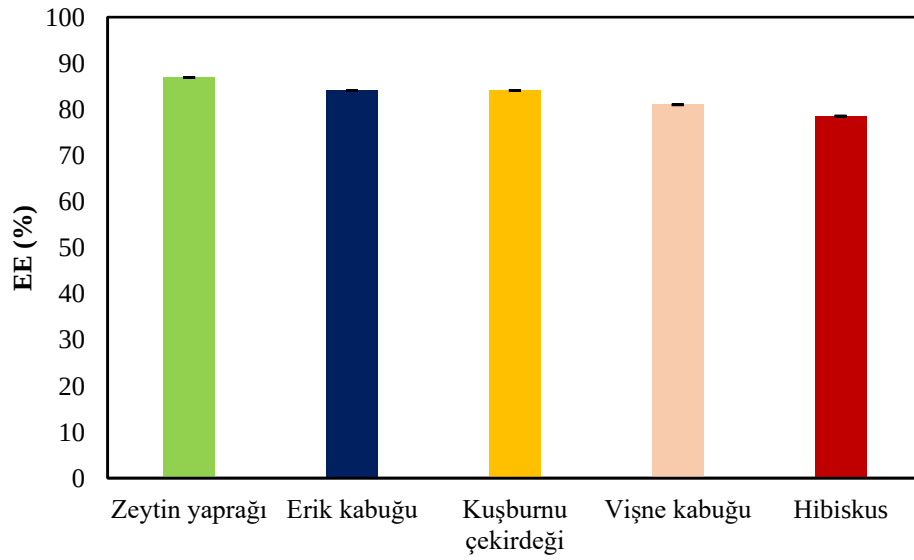


Şekil 4.59: Optimum koşullarda iyonik jelasyon ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Hibiskus ekstraktının aktif madde kaynağı olarak kullanıldığı sistem en yüksek (>%90) enkapsülasyon etkinliğine sahiptir. Bunu ~%80 verime sahip olan vişne kabuğu ekstraktının iyonik jelasyonu takip etmiştir. En düşük TFM içeriğine sahip kuşburnu çekirdeği ise en düşük EE verimine (yaklaşık %55) sahiptir.

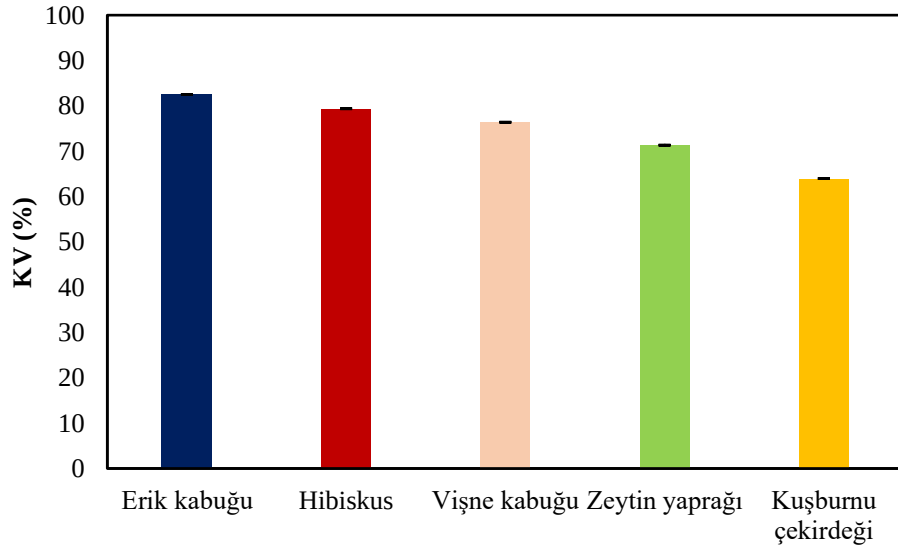
4.3.3. Püskürtmeli Kurutma Verimlerinin Karşılaştırılması

Bu tez çalışması boyunca 5 farklı püskürtmeli kurutma sistemi incelenmiştir. Her bir sistemde farklı bir aktif madde kaynağı kullanılmıştır. Her bir sistem I-optimal tasarımı ile optimize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinlikleri Şekil 4.60’da gösterilmiştir.



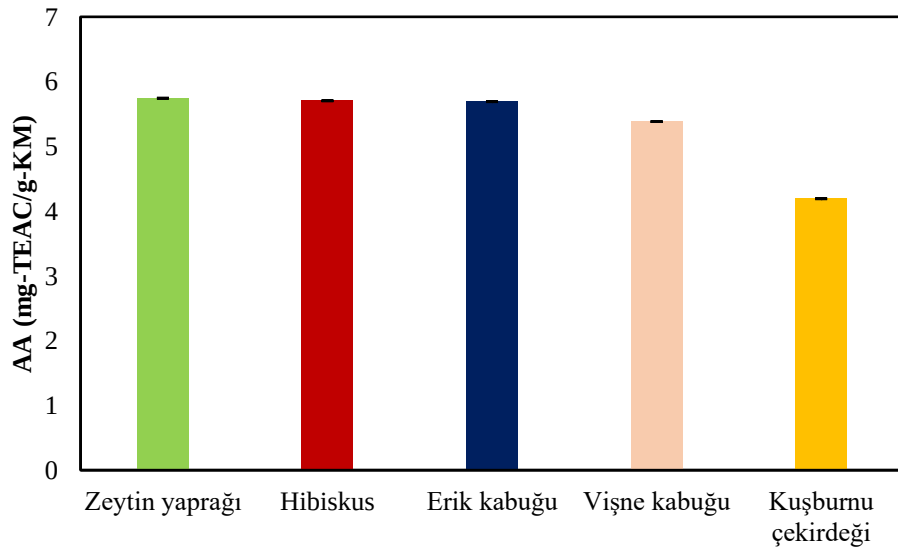
Şekil 4.60: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin enkapsülasyon etkinliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Püskürtmeli kurutma ile Arap zıkkı ve/veya maltodekstrin içerisine mikroenkapsülasyon işlemine TFM açısından en yüksek verim (yaklaşık %87) zeytin yaprağının Arap zıkkı/maltodekstrin içerisinde enkapsülasyonunda görülmüştür (Şekil 4.60). Kuşburnu ekirdeği ve erik kabuğu ekstraktlarının enkapsülasyonu benzerdir (~%84). Kuşburnu ekirdeği sadece Arap zıkkı içerisine, erik kabuğu ekstraktı ise yine Arap zıkkı/maltodekstrin karışımı içerisine enkapsüle edilmiştir. Bu değerleri %81 verimle Arap zıkkı ile kaplı vişne kabuğu ekstraktı enkapsülasyonu takip etmiştir. En düşük EE ise sadece maltodekstrin ile kaplı hibiskus ekstraktınıdır (%79).



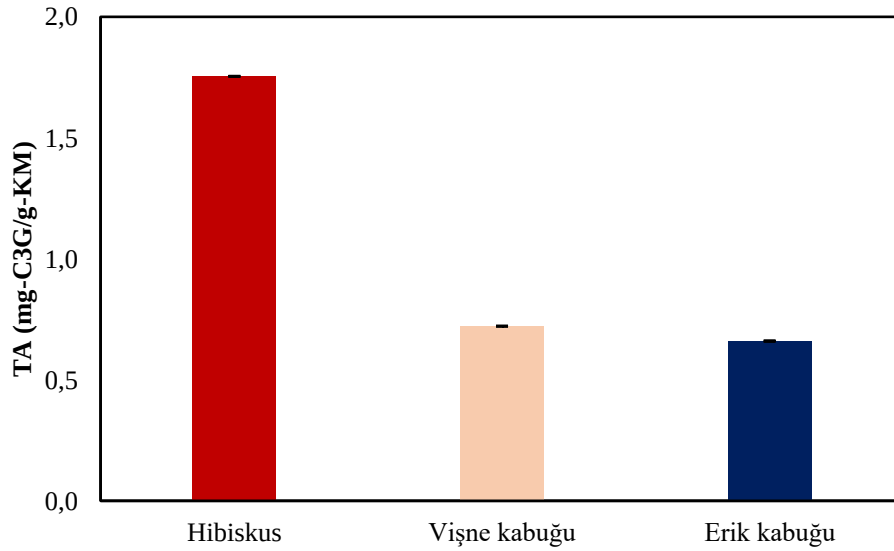
Şekil 4.61: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin kurutma verimliliklerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Aynı sistemlerin kurutma verimliliği ise Şekil 4.61’de verilmiştir. En düşük KV (%64) yine en düşük aktif madde miktarına sahip olan kuşburnu çekirdeği ekstraktının enkapsülasyonudur. En yüksek verim ise yaklaşık %83 KV değerine sahip olan erik kabuğunun Arap zıncı/maltodekstin karışımı içerisine enkapsülasyonudur.



Şekil 4.62: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin antioksidan aktivitelerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.62, aynı püskürtmeli kurutma sistemlerinin üretmiş olduğu örneklerin antioksidan aktivite değerlerini göstermektedir. Beklenildiği gibi kuşburnu çekirdeği ekstraktının en düşük AA değerine sahip olduğu görülmektedir. En yüksek TFM içeriğine sahip olan zeytin yaprağı ekstraktı ile dolu mikrokapsüller ise en yüksek AA değerine sahiptir.

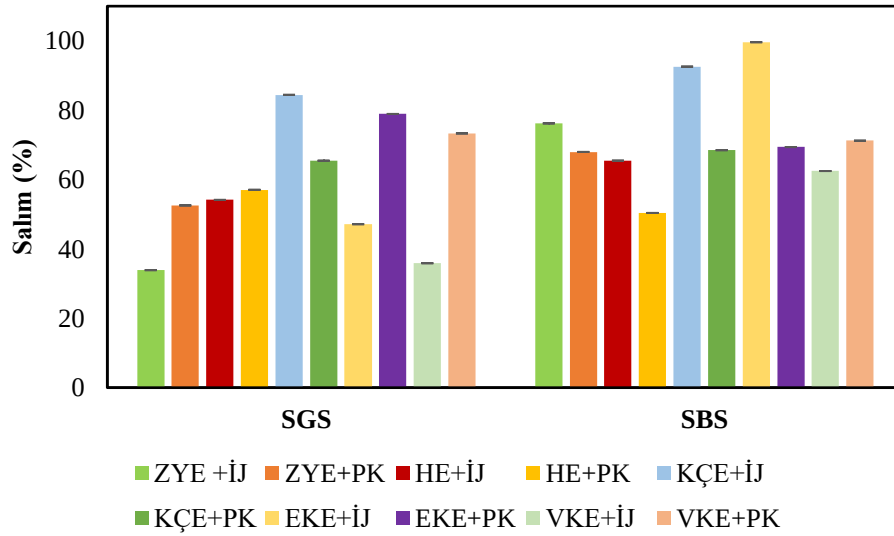


Şekil 4.63: Optimum koşullarda püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikrokapsüllerin toplam antosiyaninlerinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir.

Şekil 4.63, sadece kırmızı/mor renklere uygulanmış olan antosiyanin sonuçlarını göstermektedir. En yüksek TA değeri hibiskus ekstraktını içeren maltodekstrin ile kaplı mikrokapsüllerde gözlenmiştir. En düşük değere sahip olan erik kabuğu ekstraktlı kapsüller ise bu değer yarısından azdır.

4.3.4. Ürünlerin *in vitro* Salım Davranışlarının Karşılaştırılması

2 farklı enkapsülasyon yöntemi ile oluşturulan 10 farklı sistemden elde edilen mikrokapsül örneklerinin simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvılarında gerçekleştirilmiş olan *in vitro* salım testleri ile ilgili sıvılara geçen TFM miktarları Şekil 4.64'te karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.



Şekil 4.64: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin *in vitro* salım davranışlarının karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)

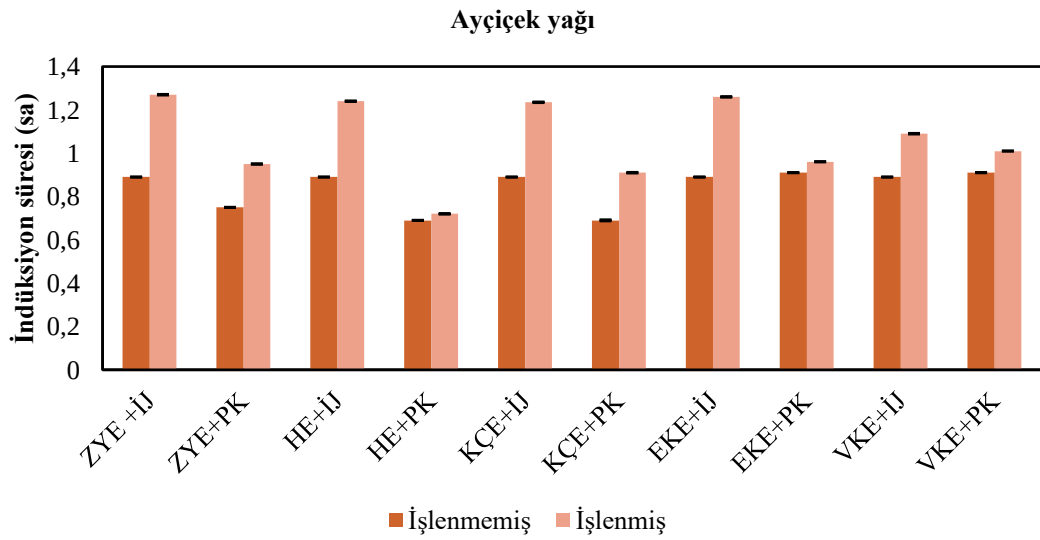
Şekil 4.64'ten de görüldüğü gibi iyonik jelasyon ile üretilen erik kabuğu ekstraktı içeren partiküllerin fenoliklerinin neredeyse tamamı bağırsakta salınmıştır. Mide de salımın %50'den az olduğunu görmekteyiz. Aynı örneklerin püskürtmeli kurutma sistemi kullanıldığında benzer performans sergilemediğini görmekteyiz. Bu durum kullanılan duvar malzemesinin ortamın asitliğine bağlı olarak bozunma durumu ile açıklanabilir. Aynı eğilim vişne kabuğu ekstraktının mikrokapsüllerinde de gözlenmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktı içeren aljinate lar da yine bağırsakta %76'dan yüksek oranda salınmış, mide de az bir miktarı kaybolmuştur.

4.3.5. Ürünlerin Model Gıda Ürünlerinde Performanslarının İncelenmesi

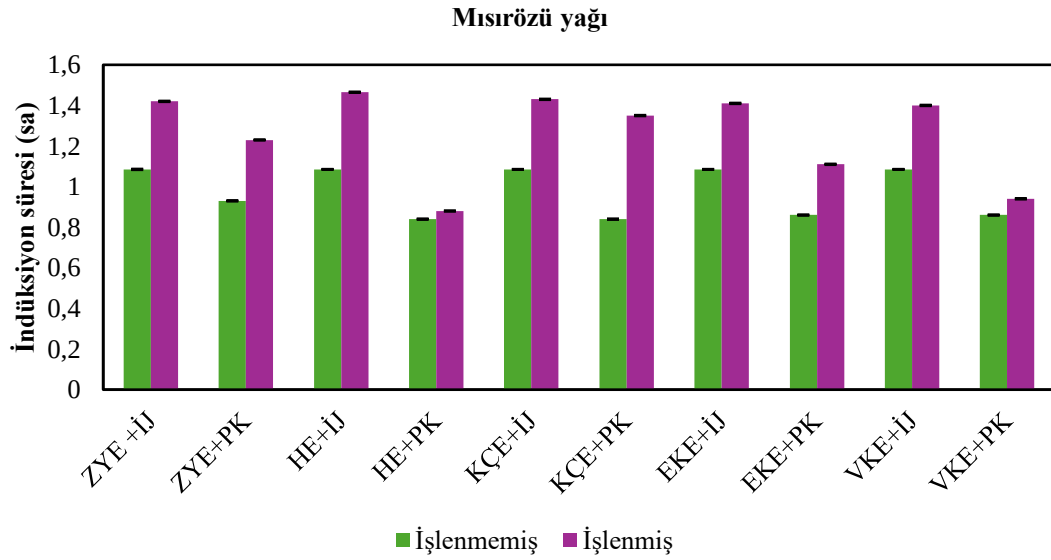
2 farklı enkapsülasyon yöntemi ile oluşturulan 10 farklı sistemden elde edilen mikrokapsül ürünleri fonksiyonel katkı maddesi olarak uygulanmıştır. Bunun içinde en fazla tüketilen 2 farklı gıda ürünü (ayçiçek ve mısırözü yağları) kullanılmıştır. Fonksiyonel gıda geliştirilmesine yönelik bir çalışma olan bu adımda ürünlerin kalitesi oksidasyona karşı direncinin artırılması ve bu şekilde raf ömrünün artırılması ve içeriğindeki biyoaktif özelliklerin (TFM ve AA) iyileştirilmesi şeklinde olmuştur. Yağların antioksidan aktivitesi ABTS serbest radikalının süpürülmesi ile ölçülmüştür. Yağ örneklerinde diğerlerinin aksine DPPH serbest radikali kullanılmamıştır. Zira ABTS testi yağ örneklerinde daha tutarlı sonuçlar vermiştir.

Şekil 4.65 ve Şekil 4.66 sırasıyla ayçiçek yağında ve mısırözü yağındaki oksidasyona karşı dirençlerin değişimi gösterilmiştir. İşlem görmüş tüm yağlarda lipid oksidasyonuna karşı direnç

artmıştır. İyonik jelasyon ile üretilen katkı maddelerinin daha yüksek artış yakaladığı görülmektedir. En yüksek oksidasyon direnci artışı (%43 ayçiçekte ve %31 mısırözünde) aljinat içerisine kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktlarında gözlenmiştir. Hibiskus ekstraktının püskürtmeli kurutulmuş örnekleri en düşük direnç artışı (<%4.5) vermiştir. Bu durum ısıya duyarlı olan antosiyanince zengin hibiskus ekstraktının yüksek sıcaklıkta işlem görünce degrade olmuş olabilmesi ile açıklanabilir. Diğer taraftan aynı ekstrakta iyonik jelasyon uygulandığında oldukça dikkat çekici bir iyileşme (%35-%39 artış) gözlenmiştir.

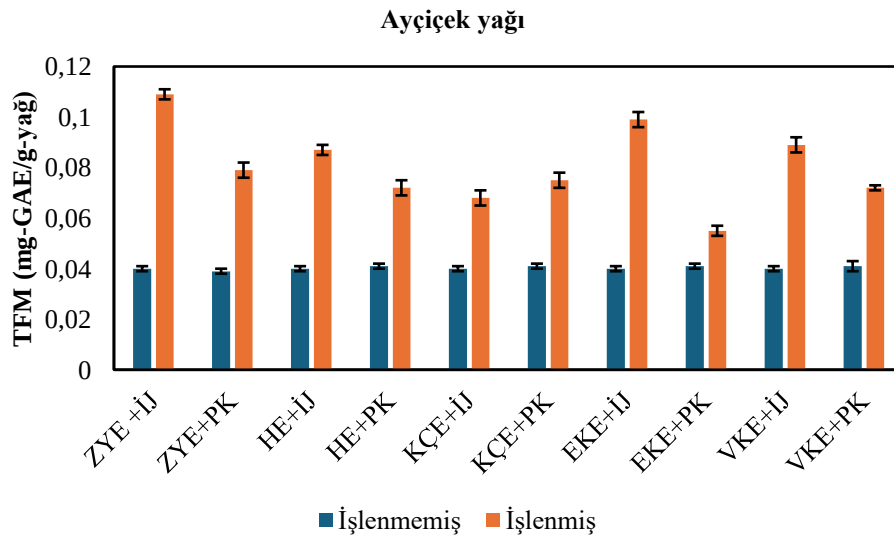


Şekil 4.65: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının oksidasyona karşı direncinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)



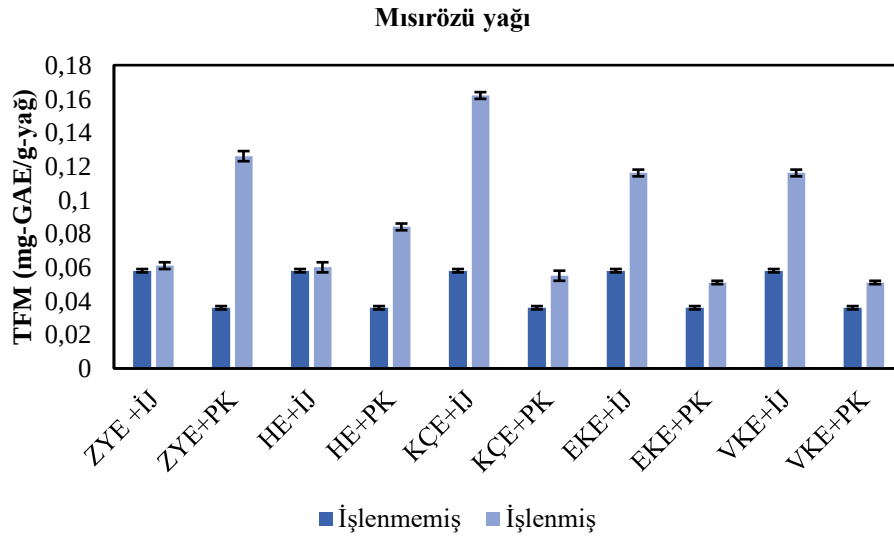
Şekil 4.66: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırozü yağının oksidasyona karşı direncinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ: İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)

Şekil 4.67 ve Şekil 4.68 sırasıyla ayçiçek yağında ve mısırozü yağındaki TFM değerlerinin değişimi gösterilmiştir. İşlem görmüş tüm yağlarda TFM oranı önemli oranda yükselmiştir. Genel olarak neredeyse 2 misli bir artış ayçiçek yağında görülmektedir (Şekil 4.67).



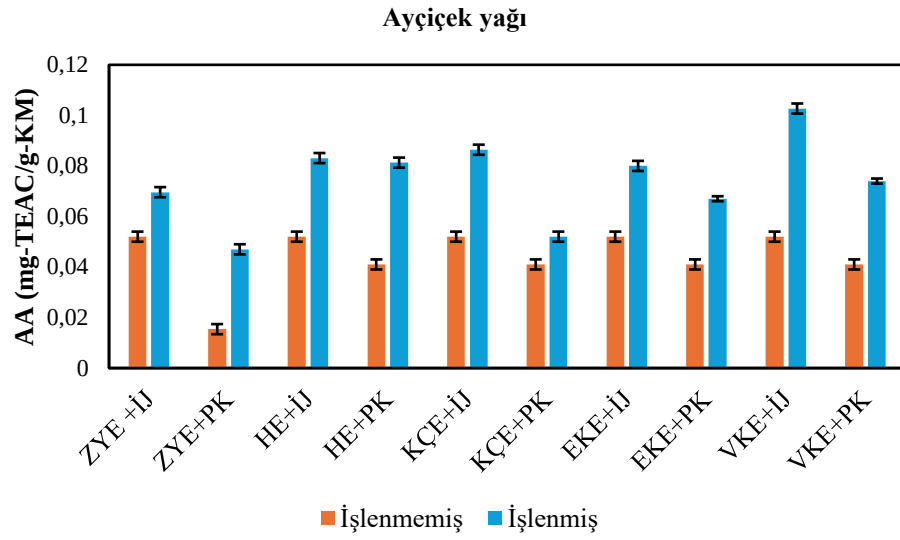
Şekil 4.67: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının toplam fenolik içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ: İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)

Mısırözü yağında ise en yüksek TFM artışı (3.5 kat) püskürtmeli kurutma ile elde edilen zeytin yaprağı ekstraktı partiküllerinde olmuştur. İyonik jelasyon ile üretilen hibiskus ve zeytin yaprağı ekstrakt örnekleri düşük bir artış (%5 gibi) sergilemiştir. Bu durum mısırözü ve ayçiçek yağının içeriklerinin farklı olması, oksidasyona direnci en düşük yağlardan biri olan ayçiçek yağının başlangıçta fazlasıyla düşük oranda fenolik maddeye sahip olmasıyla ilgilidir.

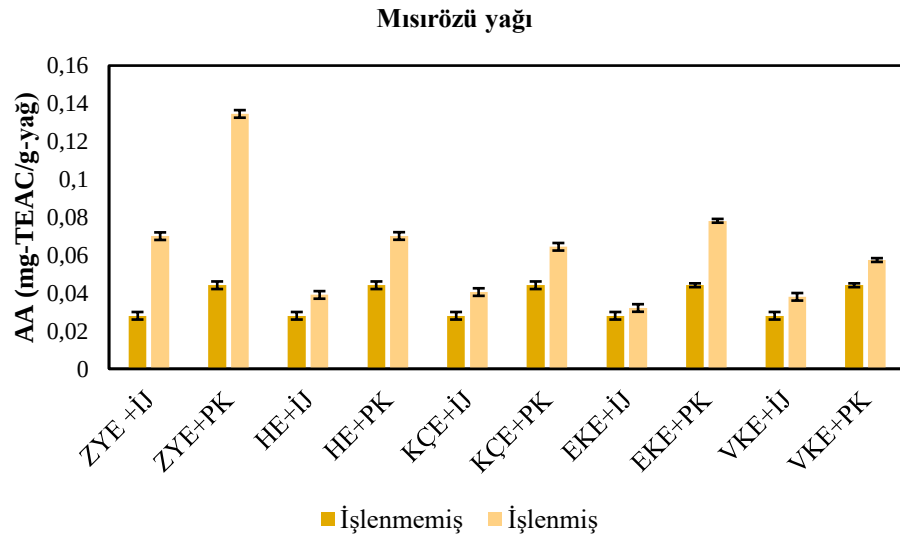


Şekil 4.68: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırözü yağının fenolik içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ:İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)

Şekil 4.69 ve Şekil 4.70’de sırasıyla ayçiçek yağında ve mısırözü yağındaki AA değerlerinin değişimi gösterilmiştir. İşlem görmüş tüm yağlarda ABTS serbest radikalini süpürme etkisi önemli oranda yükselmiştir. Genel olarak TFM seviyelerindeki artış ile paralel bir artış gözlenmektedir.



Şekil 4.69: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin ayçiçek yağının antioksidan aktivite içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ: İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)



Şekil 4.70: Optimum koşullarda elde edilen mikrokapsüllerin mısırözü yağının antioksidan aktivite içeriğinin iyileştirilmesinin karşılaştırmalı sonuçları. Veriler 3 tekrarın aritmetik ortalaması olarak verilmiştir. (İJ: İyonik Jelasyon; PK: Püskürtmeli kurutma; ZYE: Zeytin yaprağı ekstraktı; HE: Hibiskus ekstraktı; KÇE: Kuşburnu çekirdeği ekstraktı; EKE: Erik kabuğu ekstraktı; VKE: Vişne kabuğu ekstraktı)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında kullanılmış olan sürdürülebilir ham maddeler (zeytin yaprağı, hibiskus, kuşburnu çekirdeği, erik kabuğu ve vişne kabuğu) doğal antioksidanlarca zengin aktif madde kaynağı olduklarını bir kez daha göstermişlerdir. Fenolik antioksidanlarca zengin olan bu sulu alkolik ekstraktlar çevre dostu bir yöntem olan otomatik çözücü ekstraksiyonu ile elde edildikten sonra, iyonik jelasyon ve püskürterek kurutma yoluyla biyopolimerler içerisine kapsüllenmiştir. İyonik jelasyon yönteminde hedef aljinat jelleri üretmek olduğu için duvar malzemesi olarak sodyum aljinat kullanılmıştır. Sadece bir sistemde (zeytin yaprağı ekstraktının aktif madde kaynağı olarak kullanıldığı) kitosan aljinat ile beraber kullanılmış, istenilen performans elde edilmeyince diğer sistemlere uygulanmamıştır. Püskürtmeli kurutma yönteminde ise aktif maddeler Arap zıncı/maltodekstrin (harmanlanmış veya tek başına) içerisine tutunmuşlardır. 5 farklı ham madde kullanıldığı için 5 tane iyonik jelasyon ve 5 tane püskürtmeli kurutma sistemi olmak üzere toplamda 10 sistem çalışılmıştır. İki mikroenkapsülasyon sistemi de farklı değişkenler içermektedir. Dolayısıyla incelenen parametreler de farklılık göstermektedir. İyonik jelasyon sistemi oda sıcaklığında çalışılan son derece sade bir sistem olduğu için incelenecek parametre sayısı da sınırlıdır. Bu sistemde duvar malzemesi (sodyum aljinat) konsantrasyonu, jelleşme ortamı (kalsiyum klorür çözeltisi) konsantrasyonu ve jel boncuklarının sertleşmesi için geçen süre bağımsız değişken olarak incelenmiştir. İyonik jelasyon sistemlerinde bağımlı değişkenler ise toplam fenolik bileşen açısından enkapsülasyon etkinliği ve DPPH radikal süpürme etkinliği (antioksidan aktivite) olarak belirlenmiştir. Yine sadece bir sistemde (zeytin yaprağı ekstraktının aktif madde kaynağı olarak kullanıldığı) enkapsülasyon etkinliği bireysel bileşen (oleuropein) açısından da değerlendirilmiştir. HPLC’de yaşamış olduğumuz teknik sıkıntılardan ötürü diğer ham maddelere bu işlem uygulanamamıştır. Bu sistemlere yanıt yüzey metodunun Box-Behnken tasarımı uygulanmıştır. Optimum koşullarda elde edilen ürünlerin kabul edilebilir bir formda olduğunu söyleyebilmek için küresellik değeri ve şekil faktörü hesaplanmış, taramalı elektron mikroskopu ile morfolojisi incelenmiştir. Püskürtmeli kurutma sisteminde ise kurutma söz konusu olduğu için sıcaklık proses değişkeni olarak, Arap zıncı ve maltodekstrin ise karışım bileşenleri olarak incelenmiştir. Bu sistemde iki bileşenin tek tek ve beraber etkilerini incelemek için yine Design-Expert paket programı kullanılmış, fakat karışım tasarımları için uygun bir yöntem olan I-optimal tasarım (özel tasarımlar altında bulunan kombine tasarımların bir alt türü) seçilerek ürün formülasyonları geliştirilmiş, modelleme yapılmış ve girdi

değişkenlerinin etkileri belirlenmiştir. Bu sistemler de ise cevap değeri olarak yine toplam fenolik açısından enkapsülasyon etkinliği, kurutma verimliliği ve antioksidan aktivite kullanılmıştır. Hibiskus, vişne ve erik kabuklarına (pembe/bordo renkte ürünler) verilmiş olan cevap değişkenlerine ilave olarak toplam antosiyanin içeriği de eklenmiştir. Optimum koşullar belirlendikten sonra, bu koşullarda üretilen örnekler nem içeriği, su aktivitesi, çözünürlük, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk ve Carr indeksi gibi çeşitli fizikokimyasal analizler uygulanmıştır. Yine püskürtmeli kurutma örneklerine de benzer şekilde morfolojik incelemeler yapılmıştır. Simüle edilmiş mide sıvısı ve simüle edilmiş bağırsak sıvısı hazırlanarak, 10 farklı sistem ile üretilmiş olan mikrokapsül örnekleri *in vitro* gastrointestinal testler ile değerlendirilmiştir. Benzer şekilde aynı optimum koşulda üretilmiş tüm örnekler gıda ürünlerine (ayçiçek yağı ve mısırözü yağı) ayrı ayrı uygulanmış ve fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmiştir.

Bu tez kapsamında yapılmış olan tüm deneysel çalışma ve sayısız analizin sonuçlarını özetleyecek olursak:

- Otomatik çözücü ekstraksiyonu ile %80 etanol çözeltisi kullanılarak ekstrakte edilen biyokütle örnekleri içerisinde en yüksek toplam fenolik madde miktarını zeytin yaprağı göstermiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, bu materyal en düşük fenolik madde miktarına sahip olan kuşburnu çekirdeğinin 7 katı yüksek oranda fenolik maddeye sahiptir.
- İstatistiksel göstergelere (F ve p-değerleri, uyum eksikliği değeri, determinasyon katsayısı, ayarlanmış determinasyon katsayısı, tahmini determinasyon katsayısı ve varyasyon katsayısı gibi) dayanarak, 10 mikroenkapsülasyon sistemi de başarıyla modellenmiş ve optimize edilmiştir.
- Optimum koşulları doğrulamak için validasyon çalışmaları yapılmış ve tahmin verileri ile gerçek veriler arasındaki farkın %3'ten az olduğu görülmüştür. Bu sonuç da yine modelleme ve optimizasyon çalışmalarının tatmin edici olduğunu göstermektedir.
- Optimum noktalarda üretilen mikropartiküllerin fizikokimyasal özellikleri ve morfolojik yapıları dikkate alındığında başarılı sonuçlar elde edildiği söylenebilir.
- İyonik jelasyon sistemlerinin optimizasyonu ile elde edilen koşullarda üretilen mikrokapsüller içerinden %90 enkapsülasyon etkinliği ile hibiskus ekstraktının aktif madde kaynağı olarak kullanıldığı sistem en yüksek verime sahiptir. En düşük TFM içeriğine sahip kuşburnu çekirdeği ise %55 ile en düşük verime sahiptir.

- Püskürtmeli kurutma sistemlerinde ise optimizasyon koşullarına bağlı olarak bazı sistemlerde sadece Arap zımkı, bazısında maltodekstrin ve bazısında ise ikisinin karışımı duvar malzemesi olarak kullanılmıştır. Üretilen mikropartiküllerin içeriğindeki aktif madde ve duvar malzemesine göre verimler de değişmiştir. TFM açısından en yüksek enkapsülasyon etkinliği yaklaşık %87 ile zeytin yaprağının Arap zımkı/maltodekstrin içerisinde enkapsülasyonunda gözlenmiştir. En düşük enkapsülasyon etkinliği fenolik madde cinsinden %79 ile ise sadece maltodekstrin ile kaplı hibiskus ekstraktında görülmüştür. Aynı sistemde en düşük kurutma verimliliği %64 ile kuşburnu çekirdeğinin Arap zımkı içerisine kapsüllendiği örneklerde, en yüksek kurutma verimliliği ise %83 ile erik kabuğunun Arap zımkı/maltodekstrin karışımı içerisine kapsüllendiği örneklerde görülmüştür. Diğer taraftan, kuşburnu çekirdeği ekstraktının en düşük antioksidan aktivite değerine sahip olması neticesinde en düşük antioksidan aktiviteye sahip partiküller meydana getirmişlerdir. En yüksek fenolik madde içeriğine sahip olan zeytin yaprağı ekstraktı ile dolu mikrokapsüller ise en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca, antosiyanin bakımından hibiskus ekstraktını içeren maltodekstrin ile kaplı mikrokapsüller en yüksek verime sahipken, en düşük değeri erik kabuğu ekstraktlı kapsüller göstermiştir.
- Fenolik maddenin kapsül örneklerinden salımının incelendiği *in vitro* test sonuçlarına göre bazı örnekler midede salınmaması gerekirken bağırsak sıvısına göre daha fazla salım yapmıştır. En istenilen durum, iyonik jelasyon ile üretilen erik kabuğu ekstraktı içeren partiküllerin fenoliklerinin neredeyse tamamının bağırsakta salınmış olmasıyla gözlenmiştir. Yani kullanılan duvar malzemesi ve yöntemle bağlı olarak maddelerin salım davranışları da farklılık göstermiştir.
- Üretilen tüm örnekler fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak uygulanmış ve dikkate değer miktarda ürünlerde iyileştirmeler (indüksiyon süresi, antioksidan aktivite ve fenolik madde açılardan) gözlenmiştir. Ayçiçek ve mısırözü yağları gibi oksidasyona karşı direnci düşük ve içeriğinde düşük oranda fenolik antioksidan barındıran gıda ürünlerinin oksidasyona karşı direnci yükselmiştir. Genel olarak yağlar içerisindeki antioksidan özellikteki fenolik madde miktarının değişimi ile yağın oksidasyona karşı gösterdiği direnç de artmıştır.

Bu sonuçlar gelecekte yapılacak çalışmalara temel oluşturması açısından önemlidir. Daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulsa da bu bulgular *in vivo* ve klinik süreçlere geçmeden önce ön bilgi olarak katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1]. Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., da Silva, L. P., and Penna, N. G., 2021, Green extraction methods and microencapsulation technologies of phenolic compounds from grape pomace: a review. *Food and bioprocess technology*, 14 (8), 1407–1431.
- [2]. Chemat, F., Vian, M. A., and Cravotto, G., 2012, Green extraction of natural products: concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7), 8615–8627.
- [3]. Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., and Cravotto, G., 2019, Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *Trac trends in analytical chemistry*, 118, 248–263.
- [4]. Champagne, C. P., and Fustier, P. 2007, Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), 184–190.
- [5]. Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., and Capanoglu, E., 2019, A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food chemistry*, 272, 494–506.
- [6]. Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., and Barreiro, M. F., 2015, Microencapsulation of bioactives for food applications. *Food and function*, 6(4), 1035–1052.
- [7]. Kee, P. E., Cheng, Y. S., Chang, J. S., Yim, H. S., Tan, J. C. Y., Lam, S. S., ... Khoo, K. S., 2023, Insect biorefinery: A circular economy concept for biowaste conversion to value-added products. *Environmental research*, 221, 115284.
- [8]. Lucarini, M., Durazzo, A., Romani, A., Campo, M., Lombardi-Boccia, G., and Cecchini, F., 2018, Bio-based compounds from grape seeds: a biorefinery approach. *Molecules*, 23(8), 1888.
- [9]. Cherubini, F., 2010, The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy conversion and management*, 51(7), 1412–1421.
- [10]. Nizami, A. S., Rehan, M., Waqas, M., Naqvi, M., Ouda, O. K. M., Shahzad, K., ... Pant, D., 2017, Waste biorefineries: enabling circular economies in developing countries. *Bioresource technology*, 241, 1101–1117.
- [11]. Yadav, V., Sarker, A., Yadav, A., Miftah, A. O., Bilal, M., and Iqbal, H. M. N., 2022, Integrated biorefinery approach to valorize citrus waste: A sustainable solution for resource recovery and environmental management. *Chemosphere*, 293, 133459.
- [12]. Pathak, P. D., Mandavgane, S. A., and Kulkarni, B. D., 2017, Valorization of Pomegranate Peels: A Biorefinery Approach. *Waste and biomass valorization*, 8(4), 1127–1137.
- [13]. Ubando, A. T., Felix, C. B., and Chen, W. H., 2020, Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, 299, 122585.
- [14]. Kee, S. H., Chiongson, J. B. V., Saludes, J. P., Vigneswari, S., Ramakrishna, S., and Bhubalan, K., 2021, Bioconversion of agro-industry sourced biowaste into biomaterials via microbial

factories – A viable domain of circular economy. *Environmental pollution*, 271, 116311.

- [15]. Corona, B., Shen, L., Reike, D., Carreón, R., and Worrell, E., 2020, Towards sustainable development through the circular economy-A review and critical assessment on current circularity metrics. *Resources, conservation and recycling*, 151, 104498.
- [16]. Sachdeva, S., Garg, V. K., Labhsetwar, N. K., Singh, A., and Yogalakshmi, K. N. 2022, Zero waste biorefinery: a comprehensive outlook. *Energy, environment, and sustainability*, 3–22.
- [17]. Lewerenz, S., Sailer, G., Pelz, S., and Lambrecht, H., 2023, Life cycle assessment of biowaste treatment-Considering uncertainties in emission factors. *Cleaner engineering and technology*, 15, 100651.
- [18]. Finnveden, G., Hauschild, M. Z., Ekvall, T., Guinée, J., Heijungs, R., Hellweg, S., ... Suh, S., 2009, Recent developments in Life Cycle Assessment. *Journal of environmental management*, 91(1), 1–21.
- [19]. Khounani, Z., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Moustakas, K., Talebi, A. F., Goli, S. A. H., Rajaeifar, M. A., ... Lam, S. S., 2021, Environmental life cycle assessment of different biorefinery platforms valorizing olive wastes to biofuel, phosphate salts, natural antioxidant, and an oxygenated fuel additive (triacetin). *Journal of cleaner production*, 278, 123916.
- [20]. Longo, S., Mistretta, M., Guarino, F., and Cellura, M., 2017, Life cycle assessment of organic and conventional apple supply chains in the North of Italy. *Journal of cleaner production*, 140, 654–663.
- [21]. Ahanchi, M., Tabatabaei, M., Aghbashlo, M., Rezaei, K., Talebi, A. F., Ghaffari, A., ... Khounani, Z. 2018, Pistachio (*Pistachia vera*) wastes valorization: Enhancement of biodiesel oxidation stability using hull extracts of different varieties. *Journal of cleaner production*, 185, 852–859.
- [22]. Kritsotakis, K., Boukouvalas, C., Panagiotopoulou, M., Papadaki, S., and Krokida, M., 2022, Life cycle assessment (LCA) upon the production chain of a powder containing modified olive leaves' extract. *Biomass conversion and biorefinery*, 12(10), 4503-4518.
- [23]. Gökmen, S. Palamutoglu, R., Sariçoban, C., 2012, Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. *Gıda teknolojileri elektronik dergisi*, 7(1), 36–50.
- [24]. Perli, M., Saikiran, K., Sreedhar Reddy, N., and Venkatachalapathy, N. 2018, Mechanical methods of microencapsulation: a review. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 7(11), 1251–1260.
- [25]. Borgogna, M., Bellich, B., Zorzin, L., Lapasin, R., and Cesàro, A. 2010, Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food chemistry*, 122(2), 416–423.
- [26]. Acosta, E., 2009, Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current opinion in colloid and interface science*, 14(1), 3-15.
- [27]. Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., and Ferrari, G, 2011, Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food science and technology*, 44(9), 1908–1914.
- [28]. McClements, D. J., Decker, E. A., and Weiss, J., 2007, Emulsion-based delivery systems for

- lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), R109–R124.
- [29]. Gómez, B., Barba, F. J., Domínguez, R., Putnik, P., Kovačević, D. B., Pateiro, M., ... Lorenzo, J. M. 2018, Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. *Trends in food science and technology*, 82, 135-147
 - [30]. Munin, A., and Edwards-Lévy, F., 2011, Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793–829.
 - [31]. Valle, J. A. B., Valle, R. de C. S. C., Bierhalz, A. C. K., Bezerra, F. M., Hernandez, A. L., and Lis Arias, M. J., 2021, Chitosan microcapsules: Methods of the production and use in the textile finishing. *Journal of applied polymer science*, 138(21), 50482.
 - [32]. 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.
 - [33]. Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., and Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of food engineering*, 104(4), 467–483.
 - [34]. Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S., and Sumnu, G., 2012, Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: Effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *European food research and technology*, 235(4), 587–596.
 - [35]. Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., ... Jafari, S. M., 2021, Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in food science and technology*, 108, 297–325.
 - [36]. McClements, D. J., 2009, Structural design principles for improved food performance: nanolaminated biopolymer structures in foods, Chapter 1, *ACS Symposium series*, 1007, 3-34.
 - [37]. Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., ... Nedović, V., 2014, Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food engineering reviews*, 7(4), 452–490.
 - [38]. Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., ... González-Aguilar, G. A., 2011, Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food research international*, 44(7), 1866–1874.
 - [39]. Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., and Waterland, N. L., 2016, Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of food composition and analysis*, 49,19-34.
 - [40]. Gülmez, Ö., and Şahin, S., 2019, Evaluation of oxidative stability in hazelnut oil treated with several antioxidants: Kinetics and thermodynamics studies. *LWT*, 111, 478–483.
 - [41]. Kurtulbaş, E., Bilgin, M., and Şahin, S. 2018, Assessment of lipid oxidation in cottonseed oil treated with phytonutrients: Kinetic and thermodynamic studies. *Industrial crops and products*, 124, 593–599.
 - [42]. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., and Cliver, D. O., 2010, Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199–1218.
 - [43]. Quirós-Sauceda, A. E., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., and González-Aguilar, G. A., 2014, Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *Journal of*

food science and technology , 51(9), 1674–1685.

- [44]. Silva-Weiss, A., Ihl, M., Sobral, P. J. A., Gómez-Guillén, M. C., and Bifani, V., 2013, Natural additives in bioactive edible films and coatings: functionality and applications in foods. *food engineering reviews*, 5(4), 200–216.
- [45]. Dube, A., Ng, K., Nicolazzo, J. A., and Larson, I., 2010 Effective use of reducing agents and nanoparticle encapsulation in stabilizing catechins in alkaline solution. *Food chemistry*, 122(3), 662–667.
- [46]. Hasheminejad, N., Khodaiyan, F., and Safari, M., 2019, Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. *Food chemistry*, 275, 113–122.
- [47]. Dolça, C., Ferrándiz, M., Capablanca, L., Franco, E., Mira, E., López, F., ... García, D., 2015, microencapsulation of rosemary essential oil by co-extrusion/gelling using alginate as a wall material. *Journal of encapsulation and adsorption sciences*, 5(3), 121–130.
- [48]. Burey, P., Bhandari, B. R., Howes, T., and Gidley, M. J., 2008, Hydrocolloid Gel Particles: Formation, Characterization, and Application. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(5), 361–377.
- [49]. Matalanis, A., Jones, O. G., and McClements, D. J., 2011, Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food hydrocolloids*, 25(8), 1865–1880.
- [50]. George, M., and Abraham, T. E., 2006, Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan — a review. *Journal of controlled release*, 114(1), 1–14.
- [51]. Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., and Barrow, C. J., 2019, Complex coacervation: principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International journal of biological macromolecules*.
- [52]. Kurozawa, L. E., and Hubinger, M. D., 2017, Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. *Current opinion in food science*.
- [53]. López Córdoba, A., Deladino, L., and Martino, M., 2013, Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 315–323.
- [54]. Benavides, S., Cortés, P., Parada, J., and Franco, W., 2016, Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food Chemistry*, 204, 77–83.
- [55]. de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., and Hubinger, M. D., 2018, Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: pigment stability during storage of microparticles. *Food chemistry*, 241, 317–327.
- [56]. Menin, A., Zanoni, F., Vakarelova, M., Chignola, R., Donà, G., Rizzi, C., ... Zoccatelli, G., 2018, Effects of microencapsulation by ionic gelation on the oxidative stability of flaxseed oil. *Food chemistry*, 269, 293–299.
- [57]. Cutrim, C. S., Alvim, I. D., and Cortez, M. A. S., 2019, Microencapsulation of green tea polyphenols by ionic gelation and spray chilling methods. *Journal of food science and technology*, 56(8), 3561–3570.

- [58]. Arriola, N. D. A., Chater, P. I., Wilcox, M., Lucini, L., Rocchetti, G., Dalmina, M., ... de Mello Castanho Amboni, R. D., 2019, Encapsulation of *Stevia Rebaudiana* Bertoni aqueous crude extracts by ionic gelation – effects of alginate blends and gelling solutions on the polyphenolic profile. *Food chemistry*, 275, 123–134.
- [59]. de Moura, S. C. S. R., Schettini, G. N., Garcia, A. O., Gallina, D. A., Alvim, I. D., and Hubinger, M. D., 2019, Stability of hibiscus extract encapsulated by ionic gelation incorporated in yogurt. *Food and bioprocess technology*, 12(9), 1500–1515.
- [60]. Favaro-Trindade, C. S., Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., and Netto, F. M., 2010, The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food hydrocolloids*, 24(4), 336–340.
- [61]. Rocha, G. A., Fávaro-Trindade, C. S., and Grosso, C. R. F., 2012, Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and bioproducts processing*, 90(1), 37–42.
- [62]. Krishnaiah, D., Sarbatly, R., and Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chemical engineering research and design*, 90(5), 622–632.
- [63]. Romo-Hualde, A., Yetano-Cunchillos, A. I., González-Ferrero, C., Sáiz-Abajo, M. J., and González-Navarro, C. J., 2012, Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. *Food chemistry*, 133(3), 1045–1049.
- [64]. Tatar Turan, F., Cengiz, A., and Kahyaoglu, T., 2015, Evaluation of ultrasonic nozzle with spray-drying as a novel method for the microencapsulation of blueberry's bioactive compounds. *Innovative Food science and emerging technologies*, 32, 136–145.
- [65]. 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 and technology*, 52(6), 1452–1462.
- [66]. Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., and Narain, N. 2018., Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food chemistry*, 254, 281–291.
- [67]. 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.
- [68]. Abrahão, F. R., Rocha, L. C. R., Santos, T. A., Carmo, E. L. do, Pereira, L. A. S., Borges, S. V., ... Botrel, D. A., 2019, Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. *LWT*, 103, 116–124.
- [69]. Righi da Rosa, J., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rychecki Hecktheuer, L. H., ... Severo da Rosa, C., 2019, Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food hydrocolloids*, 89, 742–748.
- [70]. Corrêa-Filho, L., Lourenço, S., Duarte, D., Moldão-Martins, M., and Alves, V., 2019, Microencapsulation of tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) pomace ethanolic extract by spray drying: optimization of process conditions. *Applied sciences*, 9(3), 612.

- [71]. Navarro-Flores, M. J., Ventura-Canseco, L. M. C., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. del R., and Abud-Archila, M., 2020, Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *Journal of food science and technology*, 57(11), 4111–4122.
- [72]. Brito de Souza, V., Thomazini, M., Chaves, I. E., Ferro-Furtado, R., and Favaro-Trindade, C. S., 2020, Microencapsulation by complex coacervation as a tool to protect bioactive compounds and to reduce astringency and strong flavor of vegetable extracts. *Food hydrocolloids*, 98, 105244.
- [73]. da Rocha, C. B., and Noreña, C. P. Z., 2020, Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace. *Drying technology*, 1–15.
- [74]. Dodero, A., Pianella, L., Vicini, S., Alloisio, M., Ottonelli, M., and Castellano, M., 2019, Alginate-based hydrogels prepared via ionic gelation: An experimental design approach to predict the crosslinking degree. *European polymer journal*, 118, 586–594.
- [75]. Davarcı, F., (2012). *Effects of some physical parameters on penetration, size and shape in alginate gel microencapsulation*, Thesis (MSc) İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [76]. Iwaki, Y. O., Hernandez Escalona, M., Briones, J. R., and Pawlicka, and A., 2012, Sodium alginate-based ionic conducting membranes. *Molecular crystals and liquid crystals*, 554(1), 221–231.
- [77]. Lee, K. Y., and Mooney, D. J., 2012, Alginate: properties and biomedical applications. *progress in polymer science*, 37, 106–126.
- [78]. Yoo, S. H., Song, Y. Bin, Chang, P. S., and Lee, H. G. (2006). Microencapsulation of α -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *International journal of biological macromolecules*, 38(1), 25–30.
- [79]. Qin, Y., Zhang, G., and Sci, H. C.-J. N. F., 2020, The applications of alginate in functional food products. *Journal of nutrition and food sciences*, 3(100013).
- [80]. Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review.
- [81]. Di Battista, C. A., Constenla, D., Ramírez-Rigo, M. V., and Piña, J., 2015, The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder technology*, 286, 193–201.
- [82]. Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., and Zhao, D., 2022, Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate polymers*, 298, 120113.
- [83]. Pınarbaşı, N., 2023, *Nar kabuğu kaynaklı ellajik asitin biyoyararlılığını artırmaya yönelik mikroenkapsülasyon çalışmaları*. Akdeniz Üniversitesi.
- [84]. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., and Deeth, H., 2003, Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International dairy journal*, 13, 3–13.
- [85]. Vuolo, M. M., Lima, V. S., and Maróstica Junior, M. R., 2019, Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. *Bioactive compounds: health benefits and potential applications*, 33–50.

- [86]. Silva, A., Silva, V., Igrejas, G., Aires, A., Falco, V., Valentão, P., and Poeta, P., 2023, Phenolic compounds classification and their distribution in winemaking by-products. *European food research and technology*, 249(2), 207–239.
- [87]. Shahidi, F., and Ambigaipalan, P., 2015, Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of functional foods*.
- [88]. Alara, O. R., Abdurahman, N. H., and Ukaegbu, C. I., 2021, Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, 4, 200–214.
- [89]. De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., and Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. in *postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*, Woodhead Publishing, 253–271 .
- [90]. Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., ... Lucini, L., 2022, Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 21(2), 811–842.
- [91]. Jia, Z., Dumont, M.-J., and Orsat, V., 2016, Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices.
- [92]. Schefer, S., Oest, M., and Rohn, S., 2021, Interactions between phenolic acids, proteins, and carbohydrates—influence on dough and bread properties. *Foods*, 10(11), 2798.
- [93]. Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191–203.
- [94]. Clifford, M. N., 2000, Review Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the science of food and agriculture j sci food agric*, 79, 362–372.
- [95]. Amarowicz, R., and Pegg, R. B., 2019, Natural antioxidants of plant origin. *Advances in food and nutrition research*, 90, 1–81.
- [96]. Liga, S., Paul, C., and Péter, F., 2023, Flavonoids: Overview of biosynthesis, biological activity, and current extraction techniques. *Plants*, 12(14), 2732.
- [97]. Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., and Jin, B., 2022, Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food chemistry*, 383, 132531.
- [98]. Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C., 2008, Free radicals, antioxidants in disease and health. *international journal of biomedical science : IJBS*, 4(2), 89.
- [99]. Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D’andrea, L., Napolitano, P., and D’Alessandro, A. G., 2022, Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48–78.
- [100]. Gulcin, İ., 2020, Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651–715.
- [101]. Poljsak, B., Šuput, D., and Milisav, I., 2013, Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- [102]. de Morais, F. P. R., Pessato, T. B., Rodrigues, E., Peixoto Mallmann, L., Mariutti, L. R. B., and Netto, F. M., 2020, Whey protein and phenolic compound complexation: Effects on antioxidant

- capacity before and after in vitro digestion. *Food research international*, 133, 109104.
- [103]. Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., and Jouppila, K., 2008, Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(23), 11251–11261.
- [104]. Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., and Pérez-Gálvez, A., 2009, *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research*, 29, 751–760.
- [105]. Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., and Bucić-Kojić, A., 2020, Role of the Encapsulation in Bioavailability of Phenolic Compounds. *Antioxidants*, 9(10), 923.
- [106]. Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretti, L., Thakkar, S. K., and da Silva Pinto, M., 2013, Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British journal of clinical pharmacology*, 75(3), 588–602.
- [107]. Garavand, F., Jalai-Jivan, M., Assadpour, E., and Jafari, S. M., 2021, Encapsulation of phenolic compounds within nano/microemulsion systems: A review. *Food chemistry*, 364, 130376.
- [108]. Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., and Garrido, M., 2020, Plant phenolics: bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications. *Antioxidants*, 9(1263), 1–20.
- [109]. Ketnawa, S., Reginio, F. C., Thuengtung, S., and Ogawa, Y., 2021, Changes in bioactive compounds and antioxidant activity of plant-based foods by gastrointestinal digestion: a review.
- [110]. Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., and Yao, W., 2020, Application of starch microcapsules containing essential oil in food preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(17), 2825–2836.
- [111]. Sun, Y., Zhang, M., Bhandari, B., and Bai, B., 2021, Fennel essential oil loaded porous starch-based microencapsulation as an efficient delivery system for the quality improvement of ground pork.
- [112]. de Oliveira, W. Q., Wurlitzer, N. J., Araújo, A. W. de O., Comunian, T. A., Bastos, M. do S. R., de Oliveira, A. L., ... de Sousa, P. H. M., 2020, Complex coacervates of cashew gum and gelatin as carriers of green coffee oil: The effect of microcapsule application on the rheological and sensorial quality of a fruit juice. *Food research international*, 131, 109047.
- [113]. Ursache, F. M., Andronoiu, D. G., Ghinea, I. O., Barbu, V., Ioniță, E., Cotârleț, M., ... Stănciuc, N., 2018, Valorizations of carotenoids from sea buckthorn extract by microencapsulation and formulation of value-added food products. *Journal of food engineering*, 219, 16–24.
- [114]. Oancea, A. M., Hasan, M., Vasile, A. M., Barbu, V., Enachi, E., Bahrim, G., ... Stănciuc, N., 2018, Functional evaluation of microencapsulated anthocyanins from sour cherries skins extract in whey proteins isolate. *LWT*, 95, 129–134.
- [115]. Alotaibi, S., and Tahergorabi, R., 2018, Development of a sweet potato starch-based coating and its effect on quality attributes of shrimp during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 88, 203–209.
- [116]. Morsy, M. K., Mekawi, E., and Elsabagh, R., 2018, Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage. *LWT - Food science and technology*, 89, 489–495.

- [117]. Hadian, M., Rajaei, A., Mohsenifar, A., and Tabatabaei, M., 2017, Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. *LWT - Food science and technology*, 84, 394–401.
- [118]. Comunian, T. A., Chaves, I. E., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Ferro-Furtado, R., de Castro, I. A., and Favaro-Trindade, C. S., 2017, Development of functional yogurt containing free and encapsulated echium oil, phytosterol and sinapic acid. *Food chemistry*, 237, 948–956.
- [119]. Rutz, J. K., Borges, C. D., Zambiasi, R. C., Crizel-Cardozo, M. M., Kuck, L. S., and Noreña, C. P. Z., 2017, Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. *Food chemistry*, 220, 59–66.
- [120]. Gomez-Estaca, J., Comunian, T. A., Montero, P., Ferro-Furtado, R., and Favaro-Trindade, C. S., 2016, Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. *Food hydrocolloids*, 61, 155–162.
- [121]. Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D., and Stathopoulos, C. E., 2015, A storage study of encapsulated gac (*Momordica cochinchinensis*) oil powder and its fortification into foods. *Food and bioprocesses processing*, 96, 113–125.
- [122]. Pasrija, D., Ezhilarasi, P. N., Indrani, D., and Anandharamakrishnan, C., 2015, Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. *LWT - Food science and technology*, 64(1), 289–296.
- [123]. Taghvaei, M., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Nikoo, A. M., Rahmanian, N., Hajitabar, J., and Meshginfar, N., 2014, The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT*, 56(1), 124–130.
- [124]. Gökmen, V., Mogol, B. A., Lumaga, R. B., Fogliano, V., Kaplun, Z., and Shimoni, E., 2011, Development of functional bread containing nanoencapsulated omega-3 fatty acids. *Journal of Food engineering*, 105(4), 585–591.
- [125]. Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., ... Liu, D., 2015, Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry*, 178, 106–114.
- [126]. Lagha-Benamrouche, S., and Madani, K., 2013, Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial crops and products*, 50, 723–730.
- [127]. Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., ... Pereira, J. A., 2007, Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*olea europaea* l. cv. cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12(5), 1153–1162.
- [128]. Frega, N., Mozzon, M., and Lercker, G., 1999. Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *Journal of the American oil chemists' society*, 76(3), 325–329.
- [129]. Kochhar, S. P., and Henry, C. J. K., 2009, Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(7), 289–296.
- [130]. Şahin, S., Sayım, E., and Bilgin, M., 2017, Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil. *Journal of food science and technology*, 54(6), 1721–1728.

- [131]. Bodoira, R. M., Penci, M. C., Ribotta, P. D., and Martínez, M. L., 2017, Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT - Food science and technology*, 75, 107–113.
- [132]. Koprivnjak, O., Škevin, D., Valić, S., Majetić, V., Petričević, S., and Ljubenkov, I., 2008, The antioxidant capacity and oxidative stability of virgin olive oil enriched with phospholipids. *Food chemistry*, 111(1), 121–126.
- [133]. Toprakçı, İ., 2019 *Farklı reçine içerikli metal boyalarının korozyon önleme performansının incelenmesi ve karakterizasyonu*. Thesis (MSc), Yıldız Teknik Üniversitesi.
- [134]. Hanrahan, G., and Lu, K., 2006, Application of factorial and response surface methodology in modern experimental design and optimization. *Critical reviews in analytical chemistry*, 36(3–4), 141–151.
- [135]. Chen, W. H., Carrera Uribe, M., Kwon, E. E., Lin, K. Y. A., Park, Y. K., Ding, L., and Saw, L. H., 2022, A comprehensive review of thermoelectric generation optimization by statistical approach: Taguchi method, analysis of variance (ANOVA), and response surface methodology (RSM). *Renewable and sustainable energy reviews*, 169, 112917.
- 136. Douglas C. Montgomery., 1997, *Design and Analysis of Experiments* (4th ed.). New York: John Wiley and Sons.
- [137]. Yolmeh, M., and Jafari, S. M., 2017, Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and bioprocess technology*, 10(3), 413–433.
- [138]. Becerra, M., and Goos, P. (2021). Bayesian I-optimal designs for choice experiments with mixtures. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 217, 104395.
- [139]. Goos, P., Jones, B., and Syafitri, U., 2016, I-Optimal Design of Mixture Experiments. *Journal of the American statistical association*, 111(514), 899–911.
- [140]. Muthuveni, M., Deebika, S., Boopathy, T., Nithya, R., and Thirunavukkarasu, A., 2022, I-optimal mixture design and artificial neural network for the sustainable production of vermicompost. *Biomass conversion and biorefinery*, 1, 1–14.
- [141]. Sopyan, I. Y. A. N., Gozali, D. O. L. I. H., and Guntina, R. K., 2022,. Design-expert software (DOE): An application tool for optimization in pharmaceutical preparations formulation. *International journal of applied pharmaceutics*, 55(63).
- [142]. Ricaurte, L., Santagapita, P. R., Díaz, L. E., and Quintanilla-Carvajal, M. X. (2020). Edible gelatin-based nanofibres loaded with oil encapsulating high-oleic palm oil emulsions. *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*, 595, 124673.
- [143]. Konar, N., Durmaz, Y., Genc Polat, D., and Mert, B., 2022, Optimization of spray drying for *Chlorella vulgaris* by using RSM methodology and maltodextrin. *Journal of food processing and preservation*, 46(5), e16594.
- [144]. Kurtulbaş Şahin, E., Bilgin, M., and Şahin, S. (2022). Automatic solvent extraction of sour cherry peels and storage stability of the products. *Biomass conversion and biorefinery*, 12(11), 5197–5207.
- [145]. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Toprakçı, İ., and Bilgin, M. (2021). Enhanced extraction of high added-value products from *Hibiscus sabdariffa* using automatic solvent extractor:

Kinetics and modeling. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 19, 100356.

- [146]. Jaber, R., KabaN, G., and Kaya, M., 2022, Effects of Some Extraction Parameters on Anthocyanin Content of Barberry (*Berberis vulgaris* L.) and Its Antioxidant Activity. *Turkish journal of agricultural research*, 9(1), 41–48.
- [147]. Toprakçı, İ., and Şahin, S., 2022, Encapsulation of olive leaf antioxidants in microbeads: Application of alginate and chitosan as wall materials. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 27, 100707.
- [148]. Şahin, S., and Bilgin, M., 2018, Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. *Journal of the science of food and agriculture*, 98(4), 1271–1279.
- [149]. Sahin, S., Samli, R., Birteks Z Tan, A. S., Barba, F. J., Chemat, F., Cravotto, G., and Lorenzo, J. M., 2017, Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: antioxidant and antimicrobial properties. *Molecules*, 22(7), 1056.
- [150]. Toprakçı, G., Toprakçı, İ., and Şahin, S., 2022, Highly clean recovery of natural antioxidants from lemon peels: Lactic acid-based automatic solvent extraction. *Phytochemical Analysis*.
- [151]. Tolun, A., Altintas, Z., and Artik, N., 2016, Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of biotechnology*, 239, 23–33.
- [152]. Kurtulbaş, E., and Şahin, S., 2022, Phytochemical properties in the waste by-products of peach: optimization and storage stability studies. *Biomass conversion and biorefinery*, 1, 1–10.
- [153]. Alminger, M., Aura, A. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., ... Santos, C. N., 2014, *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 413–436.
- [154]. Zhang, L., and Kosaraju, S. L. (2007). Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. *European polymer journal*, 43(7), 2956–2966.
- [155]. Cisneros-Yupanqui, M., Zagotto, A., Alberton, A., Lante, A., Zagotto, G., Ribaud, G., and Rizzi, C. (2021). Study of the phenolic profile of a grape pomace powder and its impact on delaying corn oil oxidation. *Natural product research*, 36(1), 455–459.
- [156]. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Toprakçı, İ., and Pekel, A. G. (2023). Determination of lipid oxidation in sunflower oil treated with several additives. *Biomass conversion and biorefinery*, 13(5), 3953–3961.
- [157]. Pardauil, J. J. R., Souza, L. K. C., Molfetta, F. A., Zamian, J. R., Rocha Filho, G. N., and da Costa, C. E. F., 2011, Determination of the oxidative stability by dsc of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresource technology*, 102(10), 5873–5877.
- [158]. Şahin, S., Cığeroğlu, Z., Kurtulbaş, E., Gizem Pekel, A., and İbik, K., 2020, Kinetics and thermodynamics evaluation of oxidative stability in *Oleum hyperici*: A comparative study. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 183, 113148.
- [159]. Malik, N. S. A., and Bradford, J. M., 2006, Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in ‘Arbequina’ olives. *Scientia horticulturae*, 110(3), 274–278.

- [160]. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- [161]. Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., and Knez, Ž., 2005, Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191–198.
- [162]. Lee, B. B., Ravindra, P., and Chan, E. S., 2013, Size and Shape of Calcium Alginate Beads Produced by Extrusion Dripping. *Chemical engineering and technology*, 36(10), 1627–1642.
- [163]. Şahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., and özdemir, F., 2013, Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying. *LWT - Food science and technology*, 52(1), 31–38.
- [164]. Balci-Torun, F., and Ozdemir, F., 2021, Encapsulation of strawberry flavour and physicochemical characterization of the encapsulated powders. *Powder technology*, 380, 602–612.
- [165]. Beristain, C. I., García, H. S., and Vernon-Carter, E. J., 2001, Spray-dried encapsulation of cardamom (*elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*prosopis juliflora*) gum. *LWT - food science and technology*, 34(6), 398–401.
- [166]. Pellicer, J. A., Fortea, I., Trabal, J., Rodríguez-López, I., Gabaldón, J. A., and Núñez-Delicado, E., 2019, Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed.
- [167]. Blandino, A., Macías, M., and Cantero, D., 1999, Formation of calcium alginate gel capsules: Influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics. *Journal of bioscience and bioengineering*, 88(6), 686–689.
- [168]. Zam, W., Bashour, G., Abdelwahed, W., and Khayata, W., 2014, Alginate-pomegranate peels' polyphenols beads: effects of formulation parameters on loading efficiency. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 50(4), 741–748.
- [169]. Najafi-Soulari, S., Shekarchizadeh, H., and Kadivar, M., 2016, Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels. *Journal of biomaterials science, polymer edition*, 27(16), 1631–1644.
- [170]. Wissam, Z., and Samer, H. (2019). Encapsulation of flaxseed oil extract in alginate-salep system by ionic gelation. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 55, 261.
- [171]. Celli, G. B., Ghanem, A., and Brooks, M. S. L., 2016, Optimized encapsulation of anthocyanin-rich extract from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) in calcium-alginate microparticles. *Journal of berry research*, 6(1), 1–11.
- [172]. Anbinder, P. S., Deladino, L., Navarro, A. S. del R., Amalvy, J., and Martino, M. N., 2020, Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers. *Journal of encapsulation and adsorption sciences*, 01(04), 80–87.
- [173]. Gholamian, S., Nourani, M., and Bakhshi, N., 2021, Formation and characterization of calcium alginate hydrogel beads filled with cumin seeds essential oil. *Food chemistry*, 338, 128143.

- [174]. Stojanovic, R., Belscak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V., and Bugarski, B., 2012, Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. *Journal of the science of food and agriculture*, 92(3), 685–696.
- [175]. Takka, S., and Gürel, A., 2010, Evaluation of chitosan/alginate beads using experimental design: Formulation and in vitro characterization. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), 460–466.
- [176]. Flores, F. P., Singh, R. K., and Kong, F., 2014, Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material.
- [177]. Tumbas Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Jakišić, M., Djilas, S., Vulić, J., and Stajčić, S. D. S., 2016, Encapsulation of Beetroot Pomace Extract: RSM Optimization, Storage and Gastrointestinal Stability. *Molecules*, 21(5), 584.
- [178]. Guerra-Valle, M., Petzold, G., and Orellana-Palma, P., 2022, Optimization of Encapsulation by Ionic Gelation Technique of Cryoconcentrated Solution: A Response Surface Methodology and Evaluation of Physicochemical Characteristics Study. *Polymers*, 14(5), 1031.
- [179]. Kaltsa, O., Alibade, A., Bozinou, E., Makris, D. P., and Lalas, S. I., 2021, Encapsulation of moringa oleifera extract in ca-alginate chocolate beads: physical and antioxidant properties. *Journal of food quality*.
- [180]. Fernández-Arroyo, S., Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Pasini, F., Joven, J., Micol, V., ... Fernández-Gutiérrez, A., 2011, Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of Hibiscus sabdariffa aqueous extract. *Food research international*, 44(5), 1490–1495.
- [181]. Ergin, F., Atamer, Z., Comak Göcer, E. M., Demir, M., Hinrichs, J., and Kucukcetin, A., 2021, Optimization of Salmonella bacteriophage microencapsulation in alginate-caseinate formulation using vibrational nozzle technique. *Food hydrocolloids*, 113, 106456.
- [182]. Lević, S., Pajić Lijaković, I., Dorević, V., Rac, V., Rakić, V., Šolević Knudsen, T., ... Nedović, V., 2015, Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food hydrocolloids*, 45, 111–123.
- [183]. Volić, M., Pajić-Lijaković, I., Djordjević, V., Knežević-Jugović, Z., Pećinar, I., Stevanović-Dajić, Z., ... Bugarski, B., 2018, Alginate/soy protein system for essential oil encapsulation with intestinal delivery. *Carbohydrate polymers*, 200, 15–24.
- [184]. Assadpour, E., Jafari, S. M., and Maghsoudlou, Y., 2017, Evaluation of folic acid release from spray dried powder particles of pectin-whey protein nano-capsules. *International journal of biological macromolecules*, 95, 238–247.
- [185]. Ahn, J.-H., Kim, Y.-P., Lee, Y.-M., Seo, E.-M., Lee, K.-W., and Kim, H.-S., 2008, Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food chemistry*, 107(1), 98–105.
- [186]. Moghadam, H., Samimi, M., Samimi, A., and Khorram, M., 2008,. Electro-spray of high viscous liquids for producing mono-sized spherical alginate beads. *Particuology*, 6, 271–275.
- [187]. Woo, J. W., Roh, H. J., Park, H. D., Ji, C. Il, Lee, Y. B., and Kim, S. B., 2007, Sphericity optimization of calcium alginate gel beads and the effects of processing conditions on their physical properties. *Food science and biotechnology*, 16(5), 715–721.

- [188]. Peanparkdee, M., and Iwamoto, S., 2022,. Encapsulation for Improving in Vitro Gastrointestinal Digestion of Plant Polyphenols and Their Applications in Food Products. *Food Reviews international*, 38(4), 335–353.
- [189]. Tzatsi, P., and Goula, A. M., 2021, Encapsulation of extract from unused chokeberries by spray drying, co-crystallization, and ionic gelation, 12, 4567–4585.
- [190]. Liu, Y., Zhou, Q., He, Y.-M., Ma, X.-Y., Liu, L.-N., and Ke, Y.-J., 2021, Optimization of preparation and properties of Gardenia yellow pigment-loaded alginate beads. *Korean J. Chem. Eng.*, 38(8), 1669–1675.
- [191]. Chan, E. S., 2011, Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate polymers*, 84(4), 1267–1275.
- [192]. Gajic, I. M. S., Savic, I. M., Gajic, D. G., and Dosic, A. 2021, Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from orange peel using olive oil and its encapsulation in ca-alginate beads. *Biomolecules*, 11(2), 225.
- [193]. Aguirre-Calvo, T. R., Aguirre-Calvo, D., Perullini, M., and Santagapita, P. R., 2021, A detailed microstructural and multiple responses analysis through blocking design to produce Ca(II)-alginate beads loaded with bioactive compounds extracted from by-products. *Food hydrocolloids for health*, 1, 100030.
- [194]. Aceval Arriola, N. D., De Medeiros, P. M., Prudencio, E. S., Olivera Müller, C. M., and De Mello Castanho Amboni, R. D., 2016,. Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. *Food bioscience*, 13, 32–40.
- [195]. Keskin, M., Keskin, Ş., and Kolayli, S., 2019,. Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property. *LWT*, 108, 89–96.
- [196]. Drożłowska, E., Bartkowiak, A., Trocer, P., Kostek, M., Tarnowiecka-Kuca, A., Bienkiewicz, G., and Łopusiewicz, Ł., 2021, The influence of flaxseed oil cake extract on oxidative stability of microencapsulated flaxseed oil in spray-dried powders. *Antioxidants*, 10(2), 211.
- [197]. Luca, A., Cilek, B., Hasirci, V., Sahin, S., and Sumnu, G., 2013, Effect of degritting of phenolic extract from sour cherry pomace on encapsulation efficiency-production of nano-suspension. *Food and bioprocess technology*, 6(9), 2494–2502.
- [198]. Šaponjac, V. T., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Dilas, S., Pajin, B., Petrović, J., ... Vulić, J., 2017,. Encapsulation of sour cherry pomace extract by freeze drying: characterization and storage stability. *Acta chimica slovenica*, 64(2), 283–289.
- [199]. Niizawa, I., Espinaco, B. Y., Zorrilla, S. E., and Sihufe, G. A., 2019, Natural astaxanthin encapsulation: Use of response surface methodology for the design of alginate beads. *International journal of biological macromolecules*, 121, 601–608.
- [200]. Yousefi, M., Khanniri, E., Shadnoush, M., Khorshidian, N., and Mortazavian, A. M., 2020, Development, characterization and in vitro antioxidant activity of chitosan-coated alginate microcapsules entrapping *Viola odorata* Linn. extract. *International journal of biological macromolecules*, 163, 44–54.

- [201]. Halder, A., Maiti, S., and Sa, B., 2005, Entrapment efficiency and release characteristics of polyethyleneimine- treated or -untreated calcium alginate beads loaded with propranolol-resin complex. *International journal of pharmaceutics*, 302(1–2), 84–94.
- [202]. Wongverawattanakul, C., Suklaew, P. on, Chusak, C., Adisakwattana, S., and Thilavech, T., 2022, Encapsulation of mesona chinensis benth extract in alginate beads enhances the stability and antioxidant activity of polyphenols under simulated gastrointestinal digestion. *Foods*, 11(15), 2378.
- [203]. Zheng, L., Ding, Z., Zhang, M., and Sun, J., 2011, Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. *Journal of food engineering*, 104(1), 89–95.
- [204]. Güngör, K. K., Toprakçı, İ., Torun, F. B., Torun, M., and Şahin, S., 2023, A mixture design approach for developing ginger extract encapsulation by spray drying method: in vitro digestion and release behavior in a model product. *Biomass conversion and biorefinery*, 1, 1–13.
- [205]. Taghvaei, M., and Jafari, S. M., 2015, Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of food science and technology*, 52(3), 1272–1282.
- [206]. Symoniuk, E., Ratusz, K., Ostrowska-Ligeza, E., and Krygier, K., 2018, Impact of selected chemical characteristics of cold-pressed oils on their oxidative stability determined using the rancimat and pressure differential scanning calorimetry method. *Food analytical methods*, 11(4), 1095–1104.
- [207]. Urzúa, C., González, E., Dueik, V., Bouchon, P., Giménez, B., and Robert, P., 2017, Olive leaves extract encapsulated by spray-drying in vacuum fried starch–gluten doughs. *Food and bioproducts processing*, 106, 171–180.
- [208]. González, E., Gómez-Caravaca, A. M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Parada, J., ... Robert, P., 2020, Role of maltodextrin and inulin as encapsulating agents on the protection of oleuropein during in vitro gastrointestinal digestion. *Food chemistry*, 310, 125976.
- [209]. Ganje, M., Jafari, S. M., Dusti, A., Dehnad, D., Amanjani, M., and Ghanbari, V., 2016, Modeling quality changes in tomato paste containing microencapsulated olive leaf extract by accelerated shelf life testing. *Food and bioproducts processing*, 97, 12–19.
- [210]. Kiritsakis, K., Goula, A. M., Konstantinos, ·, Adamopoulos, G., and Gerasopoulos, · Dimitrios., 2018, Valorization of olive leaves: spray drying of olive leaf extract, 9, 619–633.
- [211]. Kosaraju, S. L., D’ath, L., and Lawrence, A., 2006, Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate polymers*, 64(2), 163–167.
- [212]. Bayraktar, O., Deniz Köse, M., and Baspinar, Y., 2019, Development of olive leaf extract loaded fibroin microparticles by spray drying.
- [213]. Tan, S. P., Kha, T. C., Parks, S. E., Stathopoulos, C. E., and Roach, P. D., 2015, Effects of the spray-drying temperatures on the physiochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. *Powder technology*, 281, 65–75.
- [214]. Alves, S. F., Borges, L. L., dos Santos, T. O., de Paula, J. R., Conceição, E. C., and Bara, M. T. F. 2013, Microencapsulation of essential oil from fruits of pterodon emarginatus using gum arabic and maltodextrin as wall materials: composition and stability, 32(1), 96–105.

- [215]. Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., and Dehnad, D., 2016, Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of biological macromolecules*, 85, 379–385.
- 216. Sablania, V., and Bosco, S. J. D., 2018, Optimization of spray drying parameters for *Murraya koenigii* (Linn) leaves extract using response surface methodology. *Powder technology*, 335, 35–41.
- [217]. Mehran, M., Masoum, S., and Memarzadeh, M., 2020, Microencapsulation of *Mentha spicata* essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial crops and products*, 154, 112694.
- [218]. Kartika Pratami, D., Mun, A., Hermansyah, H., Gozan, M., and Sahlan, M., 2020,. Microencapsulation optimization of propolis ethanolic extract from *Tetragonula* spp using response surface methodology. *International journal of applied pharmaceutics*, 12(1).
- [219]. Velazquez-Martinez, V., Valles-Rosales, D., Rodriguez-Urbe, L., Holguin, O., Quintero-Quiroz, J., Reyes-Jaquez, D., ... Delgado, E., 2021, Antimicrobial, shelf-life stability, and effect of maltodextrin and gum arabic on the encapsulation efficiency of sugarcane bagasse bioactive compounds. *Foods*, 10(1), 116.
- [220]. Yousefi, S., Kavyanirad, M., Aminifar, M., Weisany, W., and Mousavi Khaneghah, A., 2022, Yogurt fortification by microencapsulation of beetroot extract (*Beta vulgaris* L.) using maltodextrin, gum arabic, and whey protein isolate. *Food science and nutrition*, 10(6), 1875–1887.
- [221]. Jha, A. K., and Sit, N., 2021, Comparison of response surface methodology (rsm) and artificial neural network (ann) modelling for supercritical fluid extraction of phytochemicals from *terminalia chebula* pulp and optimization using rsm coupled with desirability function (df) and genetic algorithm (ga) and ann with ga. *Industrial crops and products*, 170, 113769.
- [222]. Tontul, I., and Topuz, A., 2017. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends in food science and technology*, 63, 91–102.
- [223]. Jedlińska, A., Samborska, K., Janiszewska-Turak, E., Witrowa-Rajchert, D., Seuvre, A. M., and Voilley, A., 2018, Physicochemical properties of vanilla and raspberry aromas microencapsulated in the industrial conditions by spray drying. *Journal of food process engineering*, 41(7), e12872.
- [224]. Jr., C. R. L., 1965, Evaluating flow properties of solids. *Chem. Eng.*, 18, 163–168.
- [225]. Tonon, R. V., Freitas, S. S., and Hubinger, M. D., 2011, Spray drying of açai (*euterocoe oleraceae* mart.) juice: effect of inlet air temperature and type of carrier agent. *Journal of food processing and preservation*, 35(5), 691–700.
- [226]. Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., and Fernández-López, J. A., 2009, Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of food engineering*, 90(4), 471–479.
- [227]. Li, Y., Tang, B., Chen, J., and Lai, P., 2017, Microencapsulation of plum (*Prunus salicina* Lindl.) phenolics by spray drying technology and storage stability. *Food science and technology*, 38(3), 530–536.

- [228]. Vulić, J., Šeregelj, V., Kalušević, A., Lević, S., Nedović, V., Šaponjac, V. T., ... Četković, G., 2019, Bioavailability and bioactivity of encapsulated phenolics and carotenoids isolated from red pepper waste. *Molecules*, 24(15), 2837.
- [229]. Ydjedd, S., Bouriche, S., López-Nicolás, R., Sánchez-Moya, T., Frontela-Saseta, C., Ros-Berruezo, G., ... Kati, D. E., 2017, Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and nonencapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(4), 827–835.
- [230]. Ochoa-Velasco, C. E., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S., and Guerrero-Beltrán, J. A., 2017, Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum. *Journal of food science and technology*, 54(7), 1747–1756.
- [231]. Navidad-Murrieta, M. S., Pérez-Larios, A., Sánchez-Burgos, J. A., Ragazzo-Sánchez, J. A., Luna-Bárcenas, G., and Sáyo-Ayerdi, S. G., 2020,. Use of a taguchi design in hibiscus sabdariffa extracts encapsulated by spray-drying. *Foods*, 9(2), 128.
- [232]. Younesi, M., Peighambaroust, S. H., Sarabandi, K., Akbarmehr, A., Ahaninjan, M., and Soltanzadeh, M., 2023, Application of structurally modified WPC in combination with maltodextrin for microencapsulation of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) extract as a natural colorant source for gummy candy. *International journal of biological macromolecules*, 242, 124903.
- [233]. Nguyen, Q. D., Dang, T. T., Nguyen, T. V. L., Nguyen, T. T. D., and Nguyen, N. N., 2022, Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of different carriers on selected physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried and freeze-dried powder. *International journal of food properties*, 25(1), 359–374.
- [234]. Archaina, D., Vasile, F., Jiménez-Guzmán, J., Alamilla-Beltrán, L., and Schebor, C., 2019,. Physical and functional properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract spray dried with maltodextrin-gum arabic mixtures. *Journal of food processing and preservation*, 43(9), e14065.
- [235]. Idham, Z., Muhamad, I. I., and Sarmidi, M. R., 2012, Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of food process engineering*, 35(4), 522–542.
- [236]. Burin, V. M., Rossa, P. N., Ferreira-Lima, N. E., Hillmann, M. C. R., and Boirdignon-Luiz, M. T., 2011, Anthocyanins: optimisation of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. *International journal of food science and technology*, 46(1), 186–193.
- [237]. Ramírez, M. J., Giraldo, G. I., and Orrego, C. E., 2015, Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder technology*, 277, 89–96.
- [238]. Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., and Mohammadi, A., 2019, Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International journal of biological macromolecules*, 140, 59–68.
- [239]. González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., and Ortega-Regules, A. E., 2021, Antioxidant activities of spray-dried carotenoids using maltodextrin-Arabic gum as wall materials. *Bulletin of the national research centre* 45(1), 1–11.
- [240]. Kathiman, M. N., Mudalip, S. K. A., and Gimibun, J., 2020, Effect of encapsulation agents on antioxidant activity and moisture content of spray dried powder from Mahkota Dewa fruit extract. *IOP conference series: Materials science and engineering*, 991(1), 012040.

- [241]. Kalušević, A., Lević, S., Čalija, B., Pantić, M., Belović, M., Pavlović, V., ... Nedović, V., 2017, Microencapsulation of anthocyanin-rich black soybean coat extract by spray drying using maltodextrin, gum Arabic and skimmed milk powder. *Journal of microencapsulation*, 34(5), 475–487.
- [242]. Nunes Filho, R. C., Galvan, D., Effting, L., Terhaag, M. M., Yamashita, F., Benassi, M. de T., and Spinosa, W. A., 2021,. Effects of adding spices with antioxidants compounds in red ale style craft beer: A simplex-centroid mixture design approach. *Food chemistry*, 365, 130478.
- [243]. Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A., and Talib, R. A., 2014, Physical properties of spray-dried pink guava (psidium guajava) powder. *Agriculture and agricultural science procedia*, 2, 74–81.
- [244]. Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., and Cal-Vidal, J., 2005, Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food science and emerging technologies*, 6(4), 420–428.
- [245]. Jafari, S. M., Ghalegi Ghalenoei, M., and Dehnad, D., 2017, Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder technology*, 311, 59–65.
- [246]. Vasile, F. E., Archaina, D. A., Jiménez-Guzmán, J., Gutiérrez-López, G. F., Alamilla-Beltrán, L., and Mazzobre, M. F., 2023, Prosopis alba exudate gum as new carrier agent for obtaining powdered Hibiscus sabdariffa aqueous extracts by spray drying. *Powder technology*, 419, 118316.
- [247]. Zungur Bastioğlu, A., Tomruk, D., Koç, M., and Ertekin, F. K., 2016, Spray dried melon seed milk powder: physical, rheological and sensory properties. *Journal of food science and technology*, 53(5), 2396–2404.
- [248]. Coutinho, I. B., Quezadas, M. B., de Souza, L. F. G., Nitz, M., and Andreola, K., 2022,. Spray drying of avocado pulp using the seed as an adjuvant. *Powder technology*, 408, 117738.
- [249]. Bernal-Millán, M. D. J., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Contreras-Angulo, L., Muy-Rangel, M. D., López-Martínez, L. X., and Heredia, J. B., 2022, Spray-dried microencapsulation of oregano (lippia graveolens) polyphenols with maltodextrin enhances their stability during in vitro digestion. *Journal of chemistry*.
- [250]. Martínez, J. P. Q., Ruiz, J. C. R., and Campos, M. R. S., 2018, Release kinetic studies of stevia rebaudiana extract capsules from sodium alginate and inulin by ionotropic gelation. *Advances in materials science and engineering*.
- [251]. Saikia, S., Mahnot, N. K., and Mahanta, C. L., 2015, Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food chemistry*, 171, 144–152.
- [252]. Pratami, D. K., Mun'Im, A., Yohda, M., Hermansyah, H., Gozan, M., Putri, Y. R. P., and Sahlan, M., 2019,. Total phenolic content and antioxidant activity of spray-dried microcapsules propolis from Tetragonula species. *AIP conference proceedings*, 2085(1).
- [253]. Šturm, L., Osojnik Črnivec, I. G., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., ... Poklar Ulrih, N. 2019, Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and bioproducts processing*, 116, 196–211.

- [254]. Lu, W., Yang, X., Shen, J., Li, Z., Tan, S., Liu, W., and Cheng, Z., 2021, Choosing the appropriate wall materials for spray-drying microencapsulation of natural bioactive ingredients: Taking phenolic compounds as examples. *Powder technology*, 394, 562–574.
- [255]. Murugesan, R., and Orsat, V., 2011. Spray drying of elderberry (*sambucus nigra* l.) juice to maintain its phenolic content . *Drying technology*, 29(14), 1729–1740.
- [256]. 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.
- [257]. Felix, P. H. C., Birchall, V. S., Botrel, D. A., Marques, G. R., and Borges, S. V., 2017, Physicochemical and thermal stability of microcapsules of cinnamon essential oil by spray drying. *Journal of food processing and preservation*, 41(3), e12919.
- [258]. Nambiar, R. B., Sellamuthu, P. S., and Perumal, A. B., 2017, Microencapsulation of tender coconut water by spray drying: effect of moringa oleifera gum, maltodextrin concentrations, and inlet temperature on powder qualities. *Food and bioprocess technology*, 10(9), 1668–1684.
- [259]. León-Martínez, F. M., Méndez-Lagunas, L. L., and Rodríguez-Ramírez, J., 2010, Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): Effects on powder properties and characterization. *Carbohydrate polymers*, 81(4), 864–870.
- [260]. Ali, M. R., and EL Said, R. M., 2020, Assessment of the potential of Arabic gum as an antimicrobial and antioxidant agent in developing vegan “egg-free” mayonnaise. *Journal of food safety*, 40(2), e12771.
- [261]. Quek, S. Y., Chok, N. K., and Swedlund, P. , 2007, The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical engineering and processing: process intensification*, 46(5), 386–392.
- [262]. Fournaise, T., Burgain, J., Perroud, C., Scher, J., Gaiani, C., and Petit, J., 2020, Impact of formulation on reconstitution and flowability of spray-dried milk powders. *Powder technology*, 372, 107–116.
- [263]. Phisut, N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International food research journal*, 19(4), 1297–1306.
- [264]. Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., ... Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1125–1134.
- [265]. 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.
- [266]. Arya, P., and Kumar, P., 2022,. Characterization of spray dried diosgenin from fenugreek using binary blend of carrier agents. *Applied food research*, 2(1), 100054.
- [267]. Samsu, Z. A., and Zahir, A. Z. M., 2020, Production of oil palm milk powder by spray drying technique. *Materials today: proceedings*, 31, 306–312.
- [268]. Etzbach, L., Meinert, M., Faber, T., Klein, C., Schieber, A., and Weber, F., 2020, Effects of carrier agents on powder properties, stability of carotenoids, and encapsulation efficiency of

- goldenberry (*Physalis peruviana* L.) powder produced by co-current spray drying. *Current Research in food science*, 3, 73–81.
- [269]. Mzoughi, M., Demircan, E., Turan, O. Y., Firatligil, E., and Ozcelik, B., 2023, Valorization of plum (*Prunus domestica*) peels: microwave-assisted extraction, encapsulation and storage stability of its phenolic extract. *Journal of food measurement and characterization*, 17(4), 3753–3773.
- [270]. Laureanti, E. J. G., Paiva, T. S., de Matos Jorge, L. M., and Jorge, R. M. M., 2023, Microencapsulation of bioactive compound extracts using maltodextrin and gum arabic by spray and freeze-drying techniques. *International journal of biological macromolecules*, 253, 126969.
- [271]. Machado, M. H., Almeida, A. da R., Maciel, M. V. de O. B., Vitorino, V. B., Bazzo, G. C., da Rosa, C. G., ... Barreto, P. L. M., 2022, Microencapsulation by spray drying of red cabbage anthocyanin-rich extract for the production of a natural food colorant. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 39, 102287.
- [272]. Pal, S., and Bhattacharjee, P., 2018, Spray dried powder of lutein-rich supercritical carbon dioxide extract of gamma-irradiated marigold flowers: Process optimization, characterization and food application. *Powder technology*, 327, 512–523.
- [273]. Bhandari, B. R., Datta, N., and Howes, T. (1997). Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. *Drying technology*, 15(2), 671–684.
- [274]. Erbay, Z., Koca, N., Kaymak-Ertekin, F., and Ucuncu, M., 2015, Optimization of spray drying process in cheese powder production. *Food and bioproducts processing*, 93, 156–165.
- [275]. LeClair, D. A., Cranston, E. D., Xing, Z., and Thompson, M. R., 2016, Optimization of spray drying conditions for yield, particle size and biological activity of thermally stable viral vectors. *Pharmaceutical research*, 33(11), 2763–2776.
- [276]. Tonon, R. V., Brabet, C., and Hubinger, M. D., 2008, Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of food engineering*, 88(3), 411–418.
- [277]. Correia-Filho, L. C., Lourenço, M. M., Moldaõ-Martins, M., and Alves, V. D., 2019, Microencapsulation of β -carotene by spray drying: effect of wall material concentration and drying inlet temperature. *International journal of food science*,
- [278]. Koç, B., Sakin-Yilmazer, M., Kaymak-Ertekin, F., and BalkIr, P., 2014, Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. *Journal of food science and technology*, 51(7), 1377–1383.
- [279]. Kurozawa, L. E., Morassi, A. G., Vanzo, A. A., Park, K. J., and Hubinger, M. D., 2009, Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. *Drying technology*, 27(11), 1248–1257.
- [280]. Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J. J., Jiménez-Aparicio, A. R., and Gutiérrez-Lopez, G. F., 2005, Description of morphological changes of particles along spray drying. *Journal of food engineering*, 67(1–2), 179–184.
- [281]. Jia, C., Huang, S., Liu, R., You, J., Xiong, S., Zhang, B., and Rong, J. 2021, Storage stability and in-vitro release behavior of microcapsules incorporating fish oil by spray drying. *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*, 628, 127234.

- [282]. Liao, M., Ma, L., Miao, S., Hu, X., Liao, X., Chen, F., and Ji, J., 2021, The in-vitro digestion behaviors of milk proteins acting as wall materials in spray-dried microparticles: Effects on the release of loaded blueberry anthocyanins. *Food hydrocolloids*, 115, 106620.
- [283]. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Toprakçı, İ., and Pekel, A. G., 2021, A clean and green technology for oleuropein rich extract from *Olea europaea* by-product. *Sustainable chemistry and pharmacy*, 22, 100493.
- [284]. Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Bilgin, M., Makris, D. P., and Şahin, S., 2020, Citric acid-based deep eutectic solvent for the anthocyanin recovery from *Hibiscus sabdariffa* through microwave-assisted extraction. *Biomass conversion and biorefinery*.
- [285]. Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Bilgin, M., Makris, D. P., and Şahin, S., 2022, Citric acid-based deep eutectic solvent for the anthocyanin recovery from *Hibiscus sabdariffa* through microwave-assisted extraction. *Biomass conversion and biorefinery*, 12(2), 351–360.
- [286]. Şahin, S., Pekel, A. G., and Toprakçı, İ., 2022, Sonication-assisted extraction of *Hibiscus sabdariffa* for the polyphenols recovery: application of a specially designed deep eutectic solvent. *Biomass conversion and biorefinery*, 12(11), 4959–4969.
- [287]. Greensill, C. V, Walsh -, K. B., Valentino, F., Wawan, T., Ibrahim, U. K., Kamarrudin, N., ... Alam, S., 2017, Local Fruit Wastes as a Potential Source of Natural Antioxidant: An Overview. *IOP Conference Series: materials science and engineering*, 206(1), 012040.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

İrem Toprakçı Yüksel Doktora Tezi

ORJİNALLİK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**7**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**4**

YAYINLAR

%**0**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**2**

2

cdn.iuc.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

www.mesmap.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

acikerisim.uludag.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

dergipark.org.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

acikerisim.akdeniz.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

hdl.handle.net

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

www.kmo.org.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

9

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<%**1**

