



**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GÜZYEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata*) MEYVESİNDEN LİKOPEN  
ÜRETİMİ VE ENKAPSÜLASYONU**

Doktora Tezi

**Mohamed GHELLAM**

Danışman  
**Prof. Dr. İlkay KOCA**

SAMSUN  
2021

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



**GÜZYEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata*) MEYVESİNDEN LİKOPEN  
ÜRETİMİ VE ENKAPSÜLASYONU**

Doktora Tezi

**Mohamed GHELLAM**

Danışman

**Prof. Dr. İlkay KOCA**

Bu tez PYO.MUH.1904.19.017 nolu proje ile OMÜ-BAP tarafından desteklenmiştir

SAMSUN  
2021

## TEZ KABUL VE ONAYI

**Mohamed GHELLAM** tarafından, **Prof. Dr. İlkey KOCA** danışmanlığında hazırlanan “**Güzyemişi (*Elaeagnus umbellata*) Meyvesinden Likopen Üretimi Ve Enkapsülasyonu**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 29.7.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

|                             | Unvanı Adı Soyadı<br>Üniversitesi<br>Ana Bilim/Ana Sanat Dalı                                    | İmza | Sonuç                                                                           |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Başkan</b><br>(Danışman) | Prof. Dr. İlkey KOCA<br>Ondokuz Mayıs Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı            |      | <input checked="" type="checkbox"/><br>Kabul<br><input type="checkbox"/><br>Ret |
| <b>Üye</b>                  | Prof. Dr. Zekai TARAKÇI<br>Ordu Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı                  |      | <input checked="" type="checkbox"/><br>Kabul<br><input type="checkbox"/><br>Ret |
| <b>Üye</b>                  | Prof. Dr. Hüseyin ÇELİK<br>Ondokuz Mayıs Üniversitesi<br>Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı           |      | <input checked="" type="checkbox"/><br>Kabul<br><input type="checkbox"/><br>Ret |
| <b>Üye</b>                  | Dr. Öğr.Üyesi Belkis TEKGÜLER<br>Ondokuz Mayıs Üniversitesi<br>Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı   |      | <input checked="" type="checkbox"/><br>Kabul<br><input type="checkbox"/><br>Ret |
| <b>Üye</b>                  | Dr. Öğr.Üyesi. Duygu BALPETEK<br>KÜLCÜ<br>Giresun Üniversitesi<br>Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı |      | <input checked="" type="checkbox"/><br>Kabul<br><input type="checkbox"/><br>Ret |

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

İmza

11 /08 / 2021

Mohamed GHELLAM

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı : GÜZYEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata*) MEYVESİNDEN  
LİKOPEN ÜRETİMİ VE ENKAPSÜLASYONU**

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 08/07/2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 3

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

İmza

11/08/ 2021

Prof. Dr. İlkay KOCA

## ÖZET

### GÜZYEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata*) MEYVESİNDEN LİKOPEN ÜRETİMİ VE ENKAPSÜLASYONU

Mohamed GHELLAM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Doktora, Temmuz/2021

Danışman: Prof. Dr. İlky KOCA

Güzyemişi (*Elaeagnus umbellata*), hemen her yerde kolayca yetişebilen, likopence zengin bir üzümü meyvedir. Bu çalışmanın temel amacı, güzyemişi meyvelerinden likopen ekstraksiyonun optimizasyonu ve kapsüllenmiş likopen tozlarının üretilmesidir. Bunun için çalışmanın ilk aşamasında, simpleks kafes tasarımıyla (SLD) ile farklı çözücü karışımı kullanılarak çözücülerin optimizasyonu gerçekleştirilmiş, ikinci aşamada Box-Behnken tasarımı (BBD) kullanılarak sıcaklık, süre ve pulp-çözücü oranı açısından ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Optimum noktanın seçiminde, likopen verimi dikkate alınmıştır. Optimum solvent karışımının (hekzan: aseton: metanol, 1.5:1:1) uygulanması ve en iyi ekstraksiyon koşullarında (49°C, 15 dakika ve 1:64 pulp-çözücü oranı) likopen verimi %99.61 olmuştur. Üçüncü aşamada, likopence zengin ekstrakt, taşıyıcı olarak fındık yağına aktarılmış ve ardından basit enkapsülasyon ve kompleks koaservasyon teknikleriyle kullanılarak likopen tozları üretilmiştir. Basit enkapsülasyonda; en iyi kaplama malzeme oranı (maltodekstrin ve gam arabik), çekirdek malzeme konsantrasyonunu (likopenle zenginleştirilmiş fındık yağı) ve püskürtmeli kurutmanın giriş sıcaklığını saptamak için Box-Behnken tasarımı ile optimize edilmiştir. Likopen tozunun en iyi enkapsülasyon yeterliliği (EE=%89), 30:70 maltodekstrin: gam arabik ve % 5.4 çekirdek malzemesi ile 155 °C'de elde edilmiştir. Kompleks koaservasyon ile enkapsülasyonda; kapsülleyicilerin karışımı (jelatin: pektin: gam arabik) ve çekirdek malzeme içeriği açısından optimizasyon gerçekleştirilmiş ve jelatin: pektin: gam arabik oranı 1:0.5:0.5 ve çekirdek materyali %10 olduğunda en yüksek enkapsülasyon yeterliliği elde edilmiştir. Çalışmada, basit enkapsülasyon ve kompleks koaservasyon tekniklerinde saptanan optimum koşullarda püskürterek kurutma tekniği, etüvde, mikrodalga ve dondurarak kurutma teknikleriyle de toz üretilmiş ve tozların fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda, kurutma tekniğine bağlı olarak tozların özelliklerinin önemli derecede değiştiği saptanmıştır. Enkapsülasyon yeterliliği dikkate alındığında, püskürtmeyle kurutma, hem kullanılan basit kapsülleme hem de kompleks koaservasyon için etkili bir kurutma yöntemi olduğu görülmüştür. *In vitro* biyoyararlılık çalışması sonunda, enkapsülasyon ve kurutma tekniklerinin likopenin biyoyararlanımını %21'den %44'e kadar iyileştirdiği kaydedilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Güzyemişi, Likopen, Kapsülleme, Koaservasyon.

## ABSTRACT

### PRODUCTION AND ENCAPSULATION OF LYCOPENE FROM AUTUMN OLIVE BERRY (*Elaeagnus umbellata*)

Mohamed GHELLAM

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Food Engineering

Doctorate, July/2021

Supervisor: Prof. Dr. İlkey KOCA

The main aim of this study is the extraction of lycopene from autumn olive fruits (*Elaeagnus umbellata*) and the production of lycopene encapsulated powders. Lycopene extraction from autumn olive berry was enhanced by the optimization of lycopene yield. The first optimization of solvents was realized by using Simplex-Lattice Design (SLD) and a mixture of three solvents. Then, a second optimization was realized to investigate the best extraction conditions (temperature, time, fruits-solvent ratio) using Box-Behnken Design (BBD). The optimum point was selected according to the high lycopene extraction yield. The application of the optimum solvents mixture (1.5: 1: 1; hexane: acetone: methanol) and the best extraction conditions (49° C, 15 min and 1:64 fruits- solvent ratio) have recovered up to 99.61% of lycopene (26.55 mg/g of Fresh fruit). In the second part, after transferring lycopene-rich extract to the lipidic phase (hazelnut oil), the production of lycopene powders using simple encapsulation and complex coacervation techniques was investigated. Simple encapsulation was optimized to choose the best encapsulants (maltodextrin and gum arabic), the core material content (lycopene enriched hazelnut oil), and the inlet temperature of spray drying. The best encapsulation efficiency (EE%= 89 %) of lycopene powder was obtained by 30:70 of maltodextrin: gum Arabic, and 5.4 % of core material at 155 ° C. Meanwhile, the optimum complex coacervation system was selected by optimizing the encapsulants mixture (gelatin: pectin: gum Arabic) and the core material content. High significant encapsulation efficiency was obtained at a mixture of 1:0.5:0.5 and 10% of the core material. In addition to the spray drying technique, oven, microwave, and freeze-drying techniques were applied and the physicochemical characteristics of the produced powders were analyzed. There was a significant difference in most analyzed characteristics of powders. Considering the EE, spray drying was an effective drying means for both simple encapsulation and complex coacervation. Mainly, *in vitro* bioavailability investigation demonstrated that encapsulation systems and drying techniques have improved the bioavailability of lycopene (from 21% up to 44%).

**Keywords:** Autumn olive, Lycopene, Encapsulation, Coacervation.

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. İlkay KOCA'ya,

Çalışma sürecinde desteklerini esirgemeyen Gıda mühendisliği bölümü ve diğer bölümlerdeki hocalarıma,

Deneyisel çalışma sırasındaki yardımlarından dolayı, Doktora öğrencisi; Oscar ZANNOU, Yüksek Lisans arkadaşları; Ayşegül ÖZKAN ve Begüm Ceren DUYAN ve lisans öğrencilerimiz Büşra FATENA, Lina AALADDİN, Khaled Dolani ve diğerlerine,

Sonsuz destekleri, sevgileri ve duaları ile annem, babam, ablalarım, kız kardeşlerim, dedelerim ve sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması, PYO.MUH.1904.19.017 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Mohamed GHELLAM

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEZ KABUL VE ONAYI .....                                                          | i   |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI .....                                              | ii  |
| ÖZET .....                                                                        | iii |
| ABSTRACT .....                                                                    | iv  |
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....                                                            | v   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                 | vi  |
| SİMGELER VE KISILTMALAR.....                                                      | ix  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                             | xi  |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                             | xiv |
| 1. GİRİŞ .....                                                                    | 1   |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ .....                                                          | 4   |
| 2.1. Güzyemişi ile İlgili Bilgiler.....                                           | 4   |
| 2.1.1. Güzyemişinin Botanik Özellikleri ve Yetiştirme koşulları .....             | 4   |
| 2.1.2. Güzyemişinin Bileşimi, Biyolojik Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkisi .... | 5   |
| 2.1.3. Güzyemişinin Değerlendirilmesiyle İlgili Yapılan Çalışmalar .....          | 10  |
| 2.2. Likopen .....                                                                | 11  |
| 2.2.1. Likopenin Özellikleri ve Doğada Bulunuşu .....                             | 11  |
| 2.2.2. Likopenin Antioksidan Aktivitesi.....                                      | 12  |
| 2.2.3. Likopenin Sağlık Üzerine Etkisi.....                                       | 13  |
| 2.2.4. Likopenin Ekstraksiyonu .....                                              | 14  |
| 2.2.5. Likopenin Kapsülasyonu .....                                               | 17  |
| 2.2.5.1. Kapsülasyon .....                                                        | 17  |
| 2.2.5.2. Kapsülasyonda Kullanılan Teknikler .....                                 | 19  |
| 2.2.5.3. Kaplama Malzemeleri .....                                                | 21  |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                                        | 27  |
| 3.1. Materyal .....                                                               | 27  |
| 3.1.1. Likopen Ekstraksiyonu ve Optimizasyonu .....                               | 28  |
| 3.1.1.1. Ekstraksiyon İçin Uygun Çözücü Karışımının Belirlenmesi .....            | 28  |
| 3.1.1.2. Optimum Ekstraksiyon Koşullarının Belirlenmesi .....                     | 29  |
| 3.1.2. Likopenin Enkapsülasyonu.....                                              | 29  |
| 3.1.2.1. Püskürterek Kurutma Yöntemiyle Likopen Tozu Üretimi .....                | 29  |
| 3.1.2.2. Koaservasyon Tekniği ile Enkapsülasyon .....                             | 31  |
| 3.1.2.3. Toz Üretiminde Diğer Kurutma Tekniklerinin Kullanımı .....               | 31  |

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2. Yöntem .....                                                              | 32        |
| 3.2.1. Meyvelerde Yapılan Analizler.....                                       | 32        |
| 3.2.1.1. Meyvenin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi .....       | 32        |
| 3.2.1.2. Biyoaktif Bileşikler ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....    | 33        |
| 3.2.1.3. UV-Görünür Alan Spektrumunun Belirlenmesi .....                       | 35        |
| 3.2.1.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Analizi .....                       | 35        |
| 3.2.1.5. Morfoloji Analizi .....                                               | 35        |
| 3.2.2. Emülsiyonlarda Yapılan Analizler.....                                   | 35        |
| 3.2.3. Kapsüllenmiş Tozlarda Yapılan Analizler.....                            | 36        |
| 3.2.3.1. Fiziksel, Kimyasal ve Antioksidan Aktivite Analizleri .....           | 36        |
| 3.2.3.2. Termal Özelliklerin Belirlenmesi.....                                 | 40        |
| 3.2.3.3. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Analizi .....                       | 40        |
| 3.2.3.4. Mikroskobik Özelliklerin Belirlenmesi .....                           | 40        |
| 3.2.3.5. X-Işını Kırınım (XRD) Analizi.....                                    | 40        |
| 3.2.3.6. Stabilite Testleri .....                                              | 41        |
| 3.2.3.7. Biyoyararlılık Testi .....                                            | 42        |
| 3.2.4. İstatistiksel Analiz .....                                              | 43        |
| <b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>                                            | <b>45</b> |
| 4.1. Güzyemişi Meyvelerinin Fiziksel, Kimyasal ve Antioksidan Özellikleri..... | 45        |
| 4.2. Likopen Ekstraksiyon ve Optimizasyonu.....                                | 46        |
| 4.2.1. Solvent Karışımının Belirlenmesi ve Optimizasyonu .....                 | 46        |
| 4.2.2. Optimum Ekstraksiyon Karışımı ve Modelin Doğrulanması .....             | 51        |
| 4.2.3. Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu .....                           | 51        |
| 4.2.4. Optimum Ekstraksiyon Koşulu ve Modelin Doğrulanması.....                | 56        |
| 4.2.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonuçları .....                      | 56        |
| 4.2.6. Optimum Noktada Antioksidan Aktivite Sonuçları .....                    | 57        |
| 4.2.7. UV-Görünür Alan ve Fourier Transform İnfrared (FTIR) Analizleri .....   | 58        |
| 4.2.8. Yağ Sistemindeki Likopenin Termal Degradasyon Kinetiği.....             | 60        |
| 4.3. Likopenin Enkapsülasyonu ve Optimizasyonu .....                           | 62        |
| 4.3.1. Emülsiyonların Reolojik Özellikleri.....                                | 62        |
| 4.3.2. Optimizasyon.....                                                       | 64        |
| 4.3.3. Optimum Kapsülleme Koşulu ve Modelin Doğrulanması .....                 | 70        |
| 4.3.4. Optimizasyon İçin Hazırlanan Tozların Özellikleri .....                 | 71        |
| 4.3.4.1. Nem ve Su Aktivitesi .....                                            | 71        |
| 4.3.4.2. Çözünürlük.....                                                       | 72        |

|                                                                                  |            |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.3.4.3. Yoğunluk ve Carr indeksi .....                                          | 72         |
| 4.3.4.4. Tozların Antioksidan Aktivitesi.....                                    | 72         |
| 4.3.5. Optimum Noktada Üretilen Tozların Özellikleri .....                       | 73         |
| 4.3.5.1. Reolojik Özellikler .....                                               | 73         |
| 4.3.5.2. Tozların Fiziksel Özellikleri .....                                     | 74         |
| 4.3.5.3. Termal Özellikler (DSC).....                                            | 81         |
| 4.3.5.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR).....                                  | 83         |
| 4.3.5.5. Işık Mikroskobu ve SEM Görüntüleri .....                                | 84         |
| 4.3.5.6. X-Işını Kırınım (XRD).....                                              | 87         |
| 4.3.5.7. Stabilite Testleri .....                                                | 88         |
| 4.3.5.8. Biyoyararlılık .....                                                    | 91         |
| 4.4. Koaservasyon Tekniği ile Likopen Enkapsülasyonu ve Optimizasyon .....       | 95         |
| 4.4.1. Koaservatların Reolojik Özellikleri.....                                  | 95         |
| 4.4.2. pH, mv ve Elektriksel İletkenlik.....                                     | 96         |
| 4.4.3. Optimum Nokta Seçimi .....                                                | 97         |
| 4.4.3.1. Likopen İçeriği ve Enkapsülasyon Yeterliliği .....                      | 97         |
| 4.4.3.2. Çözünürlük.....                                                         | 99         |
| 4.4.3.3. Nem ve Su Aktivitesi .....                                              | 100        |
| 4.4.3.4. Yoğunluk ve Carr indeksi .....                                          | 100        |
| 4.4.3.5. Antioksidan Aktivite (DPPH, ABTS).....                                  | 101        |
| 4.4.4. Optimum Nokta Yapılan Analizler.....                                      | 102        |
| 4.4.4.1. Optimum Noktanın Reolojik Analizleri.....                               | 102        |
| 4.4.4.2. Farklı Kurutma Teknikleriyle Üretilen Tozların Karakteristikleri... 102 |            |
| 4.4.4.3 Termal Özellikler (DSC).....                                             | 110        |
| 4.4.4.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR).....                                  | 112        |
| 4.4.4.5. Işık Mikroskobu ve SEM Görüntüleri .....                                | 114        |
| 4.4.4.6. X-Işını Kırınım (XRD).....                                              | 116        |
| 4.4.4.7. Stabilite Testleri .....                                                | 117        |
| 4.4.4.8. Biyoyararlılık .....                                                    | 120        |
| <b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                    | <b>124</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                           | <b>127</b> |

## SİMGELER VE KISILTMALAR

### SİMGELER

|      |                         |
|------|-------------------------|
| mL   | Mililitre               |
| mmol | Milimol                 |
| mS   | Milisiemens             |
| mPas | Milipaskal saniye       |
| M    | Molar                   |
| cm   | Santimetre              |
| dak  | Dakika                  |
| °C   | Santigrat derece        |
| h    | Saat                    |
| rpm  | Dakikadaki devir sayısı |

### KISILTMALAR

|            |                                              |
|------------|----------------------------------------------|
| $a_w$      | Su aktivitesi                                |
| ANOVA      | Varyans analizi                              |
| K.O        | Kareler ortalaması                           |
| S.D        | Serbestlik derecesi                          |
| K.T        | Kareler toplamı                              |
| DPPH       | 2, 2-Difenil-1-pikrilhidrazil                |
| ABTS       | 2,2'-azinobis 3-etil-bezotiazolin 6 sülfonat |
| DSC        | Diferansiyel tarama kalorimetrisi            |
| FTIR       | Fourier transform infrared                   |
| GIT        | Gastrointestinal kanal                       |
| SEM        | Taramalı elektron mikroskobu                 |
| SLD        | Simplex Kafes modeli                         |
| XRD        | X-ışınları Kırınım                           |
| PRESS      | Tahmini hata kareler toplamı                 |
| $R^2$      | Regresyon katsayısı                          |
| Düz. $R^2$ | Düzeltilmiş regresyon katsayısı              |
| EE         | Enkapsülasyon yeterliliği                    |
| TE         | Troloks eşdeğeri                             |

|            |                          |
|------------|--------------------------|
| TA         | Taze ağırlık             |
| TPC        | Toplam fenolik madde     |
| TF         | Toplam flavonidler       |
| $\Delta E$ | Toplam renkteki değişimi |
| Ea         | Aktivasyon enerjisi      |
| $\Delta G$ | Gibbs serbest enerjisi   |
| $\Delta H$ | Aktivasyon entalpisi     |
| $\Delta S$ | Aktivasyon entropisi     |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. Güzyemişi meyvesinin görünüşü.....                                                                                                                                                                                                                         | 1  |
| Şekil 2.1. Likopenin kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                                                                                             | 11 |
| Şekil 3.1. Güzyemişi meyvelerinin temin edilen yerin uydu görüntüsü.....                                                                                                                                                                                              | 27 |
| Şekil 4.1. Kodlanmış değişkenlerin (0 ve 1 arasında) (a), gerçek değişkenlerin (%10% ve 80% arasında) (b) bir fonksiyonu olarak likopen miktarı.....                                                                                                                  | 48 |
| Şekil 4.2. Farklı çözücü karışımları (hekzan :aseton :metanol) kullanılarak Simpleks-kafes tasarımıyla elde edilen likopen ekstraksiyon verimleri için yanıt yüzey grafikleri .....                                                                                   | 50 |
| Şekil 4.3. Ekstraksiyon değişkenlerinin ( $A=X_1$ : Sıcaklık, $B=X_2$ : Pulp-çözücü oranı, $C=X_3$ : süre) likopen ekstraksiyon verimleri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği .....                                                                         | 55 |
| Şekil 4.4. Ekstraksiyon (a) öncesi (b) sonrası güzyemişi meyvelerinin morfolojik yapısının SEM görüntüsü (x 200).....                                                                                                                                                 | 57 |
| Şekil 4.5. Optimum koşullarda elde edilen güzyemişi meyve ekstrakt ve hekzanın UV-Vis absorpsiyon spektrumu. ....                                                                                                                                                     | 59 |
| Şekil 4.6. Hekzan ve optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen güzyemişi meyve ekstraktlarının FTIR spektrumları. ....                                                                                                                                            | 60 |
| Şekil 4.7. Fındık yağında dağılan likopenin termal degradasyonunun kinetiği. ....                                                                                                                                                                                     | 61 |
| Şekil 4.8. Bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak enkapsülasyon yeterliliğinin, toplam ve yüzey likopen yanıt yüzey grafikleri a, d, g) kaplayıcı oran ve yağın miktarı b, e, h) kaplayıcı oran ve sıcaklığın, c, f, i ) sıcaklık ve yağ miktarının etkisi..... | 69 |
| Şekil 4.9. Farklı teknikle kurutulmuş tozun görünüşü: (a) Püskürterek (b) etüvde (c) mikrodalgada ve (d) dondurularak kurutulmuş tozlar.....                                                                                                                          | 77 |
| Şekil 4.10. Likopen kapsüllenmiş ve farklı tekniklerle kurutulmuş tozların higroskopisite kinetiği. ....                                                                                                                                                              | 78 |
| Şekil 4.11. Kapsüllenmiş likopen tozlarının ve emülsiyonun partikül boyutu. ....                                                                                                                                                                                      | 80 |
| Şekil 4.12. Ham maddelerin (a) ve kapsüllenmiş tozların (b) DSC eğrileri.....                                                                                                                                                                                         | 82 |

|                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.13. Ham maddelerin(a) ve üretilen tozların (b) FTIR spektrumları. ....                                                                                    | 83  |
| Şekil 4.14. Optimum nokta emülsiyonunun ışık mikroskobu görüntüleri (x100).....                                                                                   | 85  |
| Şekil 4.15. Kapsüllenmiş tozların SEM morfolojik görüntüleri. ....                                                                                                | 86  |
| Şekil 4.16. Farklı kurutma tekniğiyle üretilen tozların ve kontrol numunesinin (likopen olmadan püskürtmeyle kurutulmuş numune) X ışını kırınım spektrumları..... | 87  |
| Şekil 4.17. Püskürterek kurutulan tozların termal degradasyon kinetiği. ....                                                                                      | 88  |
| Şekil 4.18. Kapsüllenmiş tozun 4 °C ve 25 °C'de depolanması sırasında likopenin degradasyon kinetiği. ....                                                        | 90  |
| Şekil 4.19. Emülsiyon ve kapsüllenmiş likopen tozlarının biyoyararlılığı.....                                                                                     | 92  |
| Şekil 4.20. Koaservasyonla elde edilen tozların görünüşü: (a) Püskürterek, (b) Etüvde, (c) Mikrodalgada ve (d) Dondurularak kurutulmuş. ....                      | 105 |
| Şekil 4.21. Koaservasyon uygulanan ve farklı tekniklerle kurutulan tozların higroskopisite kinetiği. ....                                                         | 107 |
| Şekil 4.22. Koaservat ve tozlarının partikül boyutu. ....                                                                                                         | 109 |
| Şekil 4.23. Ham maddelerin (a) ve elde edilen koaservasyon tozlarının (b) DSC kurveleri.....                                                                      | 111 |
| Şekil 4.24. Ham maddelerin(a) ve elde edilen koaservasyon tozlarının (b) FTIR spektrumları. ....                                                                  | 113 |
| Şekil 4.25. Optimal nokta koaservasyonun ışık mikroskobu görüntüleri (x100).....                                                                                  | 114 |
| Şekil 4.26. Koaservasyon ile kapsüllenmiş ve farklı tekniklerle kurutulmuş tozlarının SEM görüntüleri. ....                                                       | 115 |
| Şekil 4.27. Koaservasyon ve farklı kurutma tekniğiyle üretilen tozların ve kontrol numunesinin X ışını kırınım spektrumları.....                                  | 116 |
| Şekil 4.28. Püskürterek kurutulan koaservat tozlarının farklı sıcaklıklarda termal degradasyon kinetiği. ....                                                     | 118 |
| Şekil 4.29. Koaservasyonla kapsüllenmiş püskürtmeyle kurutulmuş tozların 4 ° C ve 25 ° C'deki likopen degradasyon kinetiği. ....                                  | 119 |

|                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.30. Emülsiyon ve kapsüllenmiş likopen tozlarının<br>biyoyararlılığı..... | 121 |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|



## TABLolar DİZİNİ

|                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1. <i>Elaeagnus umbellata</i> bitkisinin taksonomik hiyerarşisi.....                                                                           | 4  |
| Tablo 2.2. Literatürde güzyemişi meyveleri için bildirilen fiziksel ve kimyasal özellikler.....                                                        | 5  |
| Tablo 2.3. Likopen kaynakları.....                                                                                                                     | 12 |
| Tablo 2.4. Farklı matematiksel teknikler kullanılarak farklı kaynaklardan likopen verim geri kazanımının optimizasyonu üzerine yapılan çalışmalar..... | 15 |
| Tablo 2.5. Gıda endüstrisinde kullanılan bazı mikroenkapsülasyon teknikleri.....                                                                       | 18 |
| Tablo 2.6. Kapsüllemede kullanılan bazı fiziksel ve kimyasal teknikler ve kaplama materyalleri.....                                                    | 18 |
| Tablo 2.7. Likopenin farklı yöntemler ile mikroenkapsülasyonu.....                                                                                     | 24 |
| Tablo 3.1. Çözücü karışımının seçiminde kullanılan oranların kodlanmış ve gerçek değerleri.....                                                        | 28 |
| Tablo 3.2. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan faktörler.....                                                                        | 29 |
| Tablo 3.3. Püskürterek kurutmada kullanılan faktörler.....                                                                                             | 30 |
| Tablo 3.4. Koaservasyonda kullanılan deneme deseni.....                                                                                                | 31 |
| Tablo 3.5. Carr indeksine göre tozların akışkanlık özellikleri.....                                                                                    | 38 |
| Tablo 4.1. Güzyemişi meyvelerinin bazı fiziksel, kimyasal ve antioksidan özellikleri.....                                                              | 45 |
| Tablo 4.2. Kodlanmış ve gerçek değişkenler ile likopen miktar ve verimi.....                                                                           | 47 |
| Tablo 4.3. Likopen ekstraksiyonunun karışım optimizasyonu için için istatistik sonuçları ( $p < 0.05$ ).....                                           | 48 |
| Tablo 4.4. Çözücü karışımının bir fonksiyonu olarak likopen için özel kübik ANOVA sonuçları.....                                                       | 48 |
| Tablo 4.5. Optimal çözücü karışımı için tahmin edilen ve deneysel değerleri.....                                                                       | 51 |
| Tablo 4.6. Box Behnken tasarımıyla elde edilen kodlanmış ve gerçek değişkenler ile likopen veriminin deneysel sonuçları.....                           | 52 |

|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 4.7. Likopen ekstraksiyonunun optimizasyonu için ANOVA regresyon model sonuçları. ....                                                      | 53 |
| Tablo 4.8. Ekstraksiyon koşullarının bir fonksiyonu olarak likopen miktarı için varyans analiz tablosu (ANOVA). ....                              | 53 |
| Tablo 4.9. Optimal koşullar için tahmin edilen değerler ve deneysel sonuçlar. ....                                                                | 56 |
| Tablo 4.10. Optimum ekstraksiyon koşullarında likopen verimi, III/II% indeksi ve ekstraktının antioksidan aktivitesi. ....                        | 57 |
| Tablo 4.11. Fındık yağında dağılan likopenin termal degradasyonunun kinetik ve termodinamik parametreleri. ....                                   | 61 |
| Tablo 4.12. Emülsiyonların, kaplayıcıların ve çekirdek malzemenin reolojik özellikleri ve modellemesi (Power-law modeli). ....                    | 63 |
| Tablo 4.13. Toplam ve yüzey likopen, enkapsülasyon yeterliliği ve toz verimi sonuçları. ....                                                      | 64 |
| Tablo 4.14. Toplam ve yüzey likopen için varyans analiz (ANOVA) sonuçları. ....                                                                   | 65 |
| Tablo 4.15. Enkapsülasyon yeterliliği ve toz verimi için varyans analiz (ANOVA) sonuçları. ....                                                   | 65 |
| Tablo 4.16. Enkapsülasyon yeterliliği (EE%), toplam likopen (T.L) ve yüzey likopen (Y.L) için model uygunluğu istatistikleri ( $p < 0.05$ ). .... | 67 |
| Tablo 4.17. Tozların fiziksel özellikleri. ....                                                                                                   | 71 |
| Tablo 4.18. Tozların antioksidan aktiviteleri. ....                                                                                               | 72 |
| Tablo 4.19. Optimum noktadaki emülsiyonun reolojik özellikleri ve modellenmesi. ....                                                              | 73 |
| Tablo 4.20. Farklı kurutma teknikleri ve optimum noktada üretilen tozların fiziksel özellikleri ile enkapsülasyon yeterliliği. ....               | 74 |
| Tablo 4.21. Tozların renk değerleri. ....                                                                                                         | 76 |
| Tablo 4.22. Farklı tekniklerle kurutulan likopen içeren tozların higroskopluk ve su kazanımı modelleme sonuçları (168 saat). ....                 | 79 |
| Tablo 4.23. Farklı kurutma teknikleriyle üretilen tozların antioksidan aktivitesi. ....                                                           | 81 |
| Tablo 4.24. Püskürterek kurutulan tozlara ait termal degradasyon kinetik ve termodinamik parametreleri. ....                                      | 88 |

|                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tablo 4.25. Püskürterek kurutulan tozların depolanmaya bağlı olarak kinetik ve termodinamik parametrelerindeki değişim. ....                              | 90  |
| Tablo 4.26. Koaservat ve kaplayıcı çözeltilerinin, pH, iletkenlik ve reolojik özellikleri.....                                                            | 95  |
| Tablo 4.27. Toplam ve yüzey likopen, enkapsülasyon yeterliliği sonuçları ve toz verimi.....                                                               | 98  |
| Tablo 4.28. 9 Koaservasyon ile üretilen tozların fiziksel özellikleri. ....                                                                               | 99  |
| Tablo 4.29. Tozların antioksidan aktivitesi. ....                                                                                                         | 101 |
| Tablo 4.30. Optimum noktada koaservat reolojik özellikleri ve modellenmesi.....                                                                           | 102 |
| Tablo 4.31. Optimum noktada farklı kurutma teknikleri ile üretilen tozların fiziksel ve kimyasal özellikleri. ....                                        | 103 |
| Tablo 4.32. Koaservasyon ile kapsüllenmiş likopen içeren tozların renk değerleri. ....                                                                    | 105 |
| Tablo 4.33. Koaservasyon uygulanan ve farklı tekniklerle kurutulan tozların higroskopiklik ve su kazanımı modellemesi (168 saat) sonuçları.....           | 107 |
| Tablo 4.34. Farklı kurutma teknikleriyle kurutulan tozların antioksidan aktivitesi.....                                                                   | 110 |
| Tablo 4.35. Püskürterek kurutulan koaservat tozun termal degradasyonunun kinetik ve termodinamik parametreleri.....                                       | 117 |
| Tablo 4.36. Koaservasyon ile kapsüllenmiş likopen tozunun (püskürtülerek kurutulmuş toz) depolanması sırasında kinetik ve termodinamik parametreleri..... | 119 |

## 1. GİRİŞ

Güzyemişi (*Elaeagnus umbellata*), iğdegiller (*Elaeagnaceae*) familyasına giren bir türdür (Tablo 2.1). Dünyada autumn olive berry, Aki-gumi ve autumnberry olarak bilinen güzyemişi (Black vd., 2005; Sakamura ve Suga, 1987), Türkiye'de güzyemişi, güz zeytini ve Japon iğdesi adlarıyla da tanınmaktadır (Çelik ve Çelik, 2017). İlk olarak, 19. yüzyılda Kuzey Amerika'da bulunan, güzyemişi (Şekil 1.1) Çin, Hindistan, Pakistan, Japonya ve Kore'de yaygın olarak yetişmektedir (Fordham vd., 2002). Avrupa ve Kuzey Amerika gibi dünyadaki birçok bölge ve ekosisteme uyumlu olan bitkinin Türkiye'de tanınması, 1990'lı yıllara denk gelmektedir (Çelik ve Çil, 2021; Özen vd., 2017).

Güz yemişi, küçük meyveli, meyveleri kırmızı renkli, küresel, meyve üzerinde gümüşü renkli benekler ve sert çekirdekler içeren ve ince mezokarpa sahip bir meyvedir (Patel, 2015). Meyvenin rengi, tadı ve sululuğu nedeniyle, memeliler ve kuşların ilgi odağı olmuş ve bunlar vasıtasıyla yayılmışlardır (Catling vd., 1997). Meyvelerdeki, şeker (fruktoz, glikoz) ve polifenollerin tatlı ve buruk kombinasyonu sayesinde özel lezzete sahiptir (Sakamura ve Suga, 1987). Olgunlaşmayla birlikte meyvenin bileşimi önemli miktarda değişime uğrar. Olgunlaşmayla burukluk azalırken, likopen gibi diğer bileşenlerin birikimi de artar (Black vd., 2005).



Şekil 1.1. Güzyemişi meyvesinin görünüşü

Güzyemişi meyvesi, sağlık açısından önemli olan likopen içermektedir (Fordham vd., 2002). Likopen, bitkiler tarafından sentezlenen doğal bir pigment olup (Gerster, 1997), pembeden kırmızıya değişen bir renk verme yeteneğindedir (Rocha vd., 2015). Bulunduğu ortama renk kazandırmasının yanı sıra, fotosentez sırasında

ışığı absorbe etme rolü de vardır ve bu özelliği sayesinde bitkileri ışığın etkisinden korumaktadır (Rao ve Agarwal, 1999).

Likopen, 8 izoprenoitten oluşan basit hidrokarbon yapıda bir karotenoiddir. Likopene, biyolojik ve fizyolojik aktivite kazandıran yapısında bulunan 11 konjuge çift bağıdır (Lowe vd., 2018; Rocha vd., 2015). Siklik bir molekül olan  $\beta$ -karotenin aksine, likopen asiklik karotenoidler arasında yer alır (Lowe vd., 2018). Doğal olarak, all-trans formunda bulunur. Yüksek sıcaklık, oksijen ve katalizör eşliğinde birçok geometrik izomer formları, mono veya poli-cis izomerleri oluşabilir (Rocha vd., 2015; Stahl ve Sies, 2003). Diğer karotenoidler gibi, likopen de yağda ve polar olmayan solventlerde çözünür (Sande, 2018). Likopen, antioksidan aktiviteye sahip olup, serbest radikalleri temizlemede önemli rol oynar (Kömüroğlu vd., 2018; Stahl ve Sies, 2003). Genel olarak, lipofilik yapısı nedeniyle, çoğunlukla hücre zarında ve lipoprotein bileşenlerinde bulunur (Rao ve Agarwal, 1999).

Likopenin antioksidan aktivite özelliği nedeniyle bazı hastalıkların önlenmesinde etkili olabileceği bildirilmiştir (Arnao vd., 2001; Tripathi vd., 2019; Xu vd., 2019). Likopenin kardiyovasküler (Biddle vd., 2015) ve nörolojik hastalıklar (Hua vd., 2019), prostat (Jiang vd., 2019) ve cilt kanseri (Clinton, 1998) gibi hastalıklara karşı etkili olabileceğini hatta diyabetle mücadelede rol oynayabileceği (Kömüroğlu vd., 2018) ve kemik sağlığını (Ardawi vd., 2016) koruyabileceği kaydedilmiştir. Likopenin gıda sistemlerinde yüksek yağ içeriğine sahip ürünlerin kalitesini ve raf ömrünü artırmak için ihtiyaç duyulan antioksidanlara alternatif olabileceği rapor edilmiştir (Sharmin vd., 2016).

Günümüzde, likopen ticari olarak kırmızı domatesten (*Lycopersicon esculentum* L.), *Blakeslea trispora* mantarı aracılığıyla ve sentetik yolla üretilmektedir. Elde edilen likopenin saflık dereceleri domateste %5, diğerlerinde ise %95 ve %96 civarındadır. Likopen, saf bir biçimde, bir formülasyonda veya bazı bileşenlerle ( $\alpha$ - tokoferol, nişasta, jelatin vb.) birlikte süspansiyon halinde (yağlar) piyasada mevcuttur (Aguilar vd., 2008; Olempska-Beer, 2006). Avrupa direktifleri ve Türk Gıda kodeksinde, likopen eldesi için ekstraksiyon çözücüsü olarak diklorometan, karbondioksit, etilasetat, aseton, propan-2-ol, metanol, etanol veya hekzan kullanımına izin verilmektedir. Çözücü kalıntısı, her çözücü için veya kombinasyonu için, 50 mg/kg'dan az olmalıdır (Aguilar vd., 2008).

Türk Gıda Kodeksi (2013), bir katkı maddesi olarak domates kökenli likopen kullanımına izin vermiştir (E160d). Avrupa direktiflerine göre, domatesten elde edilen likopen kullanımı, spesifik uygulama seviyeleri ile sınırlıdır. Her ne kadar 2009/355/EC sayılı Avrupa kararıyla onaylanan gıda katkı maddeleri güvenli olarak kabul edilmesine rağmen, gıdalardaki katkı miktarı 500 mg/kg'ı aşmamalıdır (Aguilar vd., 2008).

Likopen, birçok biyoaktif maddeye göre işleme koşullarına karşı daha dayanıklı olsada işleme sırasında kayıpları minimize etmek için ek uygulamalar gerekebilmektedir. Bu amaçla kullanılan tekniklerin başında kapsülleme veya mikro ve nano kapsül üretimi gelmektedir (Sanguansri ve Augustin, 2010).

Mikroenkapsülasyon aktif bir maddenin (çekirdek materyal) çevresinin bir veya daha fazla kaplama maddesi (duvar materyali) ile sarılıp mikrometre ile milimetre aralığında büyüklüğe sahip kapsüllerin (mikrokapsül) elde edilmesinde kullanılan bir teknolojidir.

Likopen gibi biyoaktif bileşikler enkapsülasyonun birçok nedeni vardır. Bunların başında; (i) hassas ve fonksiyonel bileşikler dış ortamdan korumak, (ii) oksijen, ısı gibi faktörlere karşı stabilitesini artırmak, (iii) aroma ve renklerini maskelemek veya korumak, diğer bileşiklerle etkileşimlerini önlemek, (iv) salınım ve dağıtımını kontrol etmek, (V) kapsüllenmiş malzemelerin çözünürlüğünü, dağılılabilişliğini ve raf ömrünü arttırmak gibi amaçlar gelmektedir (Dubey vd., 2009; Ghosh, 2006; Gibbs vd., 1999; Jyothi vd., 2010).

Bu çalışmada, güzyemişi meyvelerinden a) solvent ekstraksiyonuyla optimum koşullarda likopen elde etmek, b) elde edilen likopenin optimum koşullarda basit enkapsülasyon ve kompleks koaservasyon teknikleriyle kapsülleme, c) kapsüle edilen likopenin özelliklerini saptamak amaçlanmıştır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

Güzyemişi meyvesi dünyada kolayca yetişebilen bir meyve olmasına rağmen yeterince tanınmamaktadır. Bu bölümde güzyemişi meyvesinin genel özellikleri, bileşimi, değerlendirilmesi ve sağlık açısından öneminin yanı sıra önemli bir bileşen olan likopenin özellikleri, ekstraksiyonu ve kapsülasyonu üzerinde durulmaktadır.

### 2.1. Güzyemişi ile İlgili Bilgiler

#### 2.1.1. Güzyemişinin Botanik Özellikleri ve Yetiştirme koşulları

Elaeagnus (Elaeagnaceae) familyası, Asya'nın ılıman ve subtropikal bölgelerde yayılmış, yaklaşık 98 tür kapsamaktadır. Bu familya, besin ve süs değeri olan çalı ve küçük ağaçları içermektedir (Gamba vd., 2020; Iannuzzi vd., 2020). Güzyemişi (*Elaeagnus umbellata*), bu familya içinde en dikkat çekici meyvelerdendir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. *Elaeagnus umbellata* bitkisinin taksonomik hiyerarşisi (USDA, 2021).

|                  |                                               |
|------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Bölüm</b>     | Spermatophyta - Tohumlu bitkiler              |
| <b>Alt bölüm</b> | Magnoliophyta - Kapalı tohumlular             |
| <b>Sınıf</b>     | Magnoliopsida - İki çenekliler                |
| <b>Alt sınıf</b> | Rosidae                                       |
| <b>Takım</b>     | Rhamnales                                     |
| <b>Familya</b>   | Elaeagnaceae - İğdegiller familyası           |
| <b>Cins</b>      | <i>Elaeagnus</i> L. - iğde                    |
| <b>Tür</b>       | <i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb. - güzyemişi |

Güzyemişi, güneşli, gölgeli, verimsiz gibi pek çok alanda ve tuzlu, killi, kumlu vs. toprakta büyüeyebilen bir bitki olup, farklı pH ve iklim koşullarına rahatça uyum gösterebilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı da dünyada yaygın yayılım göstermiştir. Kışın yaprak döken bir çalı veya küçük ağaç görünümündedir. Tipik olarak 3.5-5.5 m boyunda ve 3.5-5.5 m genişliğindedir. Yoğun dalları sayesinde yuvarlak görünüme sahiptir. Yapraklarının üst kısmı açık yeşil ve alt kısmı gümüşü yeşildir. Yaprakları, eliptik ile oval-dikdörtgen, 4-8 cm uzunluğunda ve 1-2.5 cm genişliğindedir. Sert çekirdekli meyveleri ham iken kahverengi pullarla kaplı gümüş rengindeyken olgunlaşmayla birlikte benekli kırmızıya dönüşür. Meyve; etli, yarı küresel ile geniş

elipsoid yapıda olup 6-8 mm uzunluğunda, 1.25-1.5 cm büyüklüğündedir. Olgun bir bitki, yılda 0.9-3.4 kg meyve verebilir. Tohum sayısı 1 kg'da 20.000-54.000 arasında değişir (Ahmad vd., 2005). Eşeyli veya vejetatif (çelikle vb.) olarak çoğaltılabilir (Ahmad vd., 2006; Çelik ve Çil, 2021; Soley ve Sipes, 2021). Çelikle çoğaltılması yaygın olarak kullanılan ucuz ve hızlı bir tekniktir (Çelik ve Çil, 2021). Eşeyli üreme, Mayıs ve Haziran ayları arasında iki haftadan fazla süren çiçeklenmeyle başlar (Dirr, 2011; Soley ve Sipes, 2021). Çiçeklenmeyle birlikte çok çekici ve güçlü bir koku oluşur (Potter, 1995; Sabir ve Ahmad, 2010). Tozlayıcılarla çiçeklerde çapraz tozlaşma gerçekleştirilir ve gelecek yılın meyveleri elde edilir (Soley ve Sipes, 2021). Taze meyveler, Eylül-Ekim, hatta Kasım aylarında olgunlaşır (Çelik ve Çil, 2021; Dirr, 2011).

Güzel kokulu çiçekleri ve parlak yaprakları nedeniyle bu meyveden, süs bitkisi olarak da yararlanılmaktadır. Değişken edafik ve iklim koşullarına yüksek toleransı nedeniyle toprak stabilizasyonu ve erozyonu önlemede koruma şeritleri olarak kullanılmaktadır. Daha öncede ifade edildiği gibi, bu bitki, yüksek pH'lı topraklarda yetişebilmesi, kuraklığa dayanıklılığı ve azotu depolama yeteneğine sahip olması nedeniyle yaygın yayılış göstermiş (Patel, 2015; Potter, 1995) ve çoğu bölgede istilacı kabul edilmiştir (Dirr, 2011; Franke vd., 2018).

### 3.1.2. Güzyemişinin Bileşimi, Biyolojik Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkisi

Güzyemişi, fruktoz, glikoz gibi indirgen şekerler, malik asit, sitrik asit gibi organik asitler, yağ asitleri, protein ve fenolik bileşikler içeren bir meyvedir (Tablo 2.2). Doğal bir pigment olan likopenin de önemli kaynağıdır (Sabir ve Ahmad, 2010; Wang ve Fordham, 2007; Wu vd., 2011). Ayrıca, canlı organizmanın gelişimi ve sağlığın sürdürülmesi için gerekli olan çinko, manganez, potasyum, fosfor, demir, magnezyum ve kalsiyum gibi birçok mineral madde ile C vitamini gibi vitaminleri de önemli ölçüde içermektedir (Khattak, 2012; Sabir ve Riaz, 2005).

Tablo 2.2. Literatürde güzyemişi meyveleri için bildirilen fiziksel ve kimyasal özellikler.

| Meyve özellikleri |                         | Kaynak             |
|-------------------|-------------------------|--------------------|
| Ağırlık/ meyve    | 17.54-18.40g /100 tane  | Hussain (2011)     |
| sayısı/           | 16.41-22.80 g /100 tane | Ahmad vd. (2006)   |
|                   | 50g /259 tane           | Ghellam vd. (2021) |

|                             |                                                                                        |                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| En                          | 3.78- 4.28 mm<br>4.8- 6.7 mm<br>6.40 mm                                                | Hussain (2011)<br>Ahmad vd. (2006)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                                                    |
| Boy                         | 6.99 mm<br>7.1-8.7 mm<br>6.19 mm                                                       | Wu vd. (2011)<br>Ahmad vd. (2006)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                                                     |
| Nem, %                      | 78.49-81.71<br>71.4<br>77.24                                                           | Hussain (2011)<br>Khattak (2012)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                                                      |
| Çözünür katı madde, %       | 12.3-15.4<br>9.03-11.76<br>11-17<br>14.80                                              | Black vd. (2005)<br>Hussain (2011)<br>Perkins-Veazie vd. (2005)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                       |
| pH                          | 3.1-4.0<br>3.30-3.90<br>4.5<br>3.07                                                    | Black vd. (2005)<br>Hussain (2011)<br>Khattak (2012)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                                  |
| Titrasyon asitliği,%        | 1.7-5.5<br>0.79-1.29<br>0.20-0.69<br>2.66<br>2.20-2.94<br>3.1<br>1.20                  | Black vd. (2005)<br>Wang ve Fordham (2007)<br>Wang ve Fordham (2007)<br>Wu vd. (2011)<br>Hussain (2011)<br>Khattak (2012)<br>Ghellam vd. (2021)                             |
| Likopen, mg/100g            | 33.6-55.3<br>1990 (Toplam karotenoid)<br>30.58- 46.23<br>30-50<br>20.47                | Black vd. (2005)<br>Khattak (2012)<br>Wang ve Fordham (2007)<br>Perkins-Veazie vd. (2005)<br>Ghellam vd. (2021)                                                             |
| C Vitamini, mg/100g         | 13.8-16.9<br>7.65-10.10<br>27.8<br>13.8-16.9<br>7.17                                   | Sabir ve Riaz (2005)<br>Hussain (2011)<br>Khattak (2012)<br>Ahmad vd. (2006)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                          |
| Toplam Fenolik madde, mg/kg | 1399-1833<br>5560 *<br>1689-2581<br>23300*<br>16300-20000<br>1700<br>1900-2750<br>2870 | Black vd. (2005)<br>Spínola vd. (2019)<br>Wang ve Fordham (2007)<br>Khattak (2012)<br>Ishaq vd. (2015)<br>Perkins-Veazie vd. (2005)<br>Pei vd. (2015)<br>Ghellam vd. (2021) |
| Toplam Flavonoid, mg/g      | 3.6 *<br>1.5-3.8<br>25.26                                                              | Khattak (2012)<br>Ishaq vd. (2015)<br>Ghellam vd. (2021)                                                                                                                    |
| DPPH, mmol/100 g            | 494                                                                                    | Ghellam vd. (2021)                                                                                                                                                          |
| Şekerler, %                 |                                                                                        |                                                                                                                                                                             |
| Indirgen şeker              | 6.8-8.4<br>6.8-8.5                                                                     | Sabir ve Riaz (2005)<br>Ahmad vd. (2006)                                                                                                                                    |
| Indirgen olmayan şeker      | 1.4-2.2<br>1.9-2.3                                                                     | Sabir ve Riaz (2005)<br>Ahmad vd. (2006)                                                                                                                                    |
| Toplamşeker                 | 7.42-7.70                                                                              | Hussain (2011)                                                                                                                                                              |
| Protein, %                  | 4.0                                                                                    | Khattak (2012)                                                                                                                                                              |

|                  |                              |                                        |
|------------------|------------------------------|----------------------------------------|
|                  | 2.3-5.3                      | Sabir ve Ahmad (2010)                  |
|                  | 2.5-5.1                      | Sabir ve Riaz (2005)                   |
| Yağ % (meyve),   | 7.6-8.11                     | Sabir ve Riaz (2005)                   |
|                  | 7.43-8.11                    | Ahmad vd. (2006)                       |
|                  | 4.78-5.04                    | Hussain (2011)                         |
| Çekirdek kısmı   | 5.7-6.1                      | Sabir ve Riaz (2005)                   |
|                  | 5.84-6.11                    | Ahmad vd. (2006)                       |
|                  | 5.30-5.50                    | Hussain (2011)                         |
| Mineral maddeler |                              |                                        |
| Kalsiyum         | 6.37-6.70 mg/100g, 70-110    | Hussain (2011); Sabir ve Riaz (2005)   |
| Fosfor           | mg/L                         |                                        |
| Demir            | 48-60 mg/L, 18.90-19.20      | Ahmad vd. (2006); Hussain (2011)       |
| Sodyum           | mg/100g                      | Ahmad vd. (2006); Sabir ve Riaz (2005) |
| Potasyum         | 157-190 mg/L, 78.5-95.0 mg/L | Ahmad vd. (2006); Sabir ve Riaz (2005) |
| Magnezyum        | 20-40 mg/L, 20-40 mg/L       | Ahmad vd. (2006); Sabir ve Riaz (2005) |
|                  | 175-340 mg/L, 175-375 mg/L   | Ahmad vd. (2006); Sabir ve Riaz (2005) |
|                  | 70-84 mg/L, 14.90-15.41      | Ahmad vd. (2006); Sabir ve Riaz (2005) |
|                  | mg/100g                      | Ahmad vd. (2006); Hussain (2011)       |

\*kuru ağırlıkta

Başta likopen olmak üzere önemli antioksidan bileşikler içeren güzyemişinin sağlık üzerine etkisi farklı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Güzyemişi meyve ekstraktlarında yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, hipoglisemik, hepatoprotektif ve nefroprotektif etkilere sahip olduğunu (Kim vd., 2019; Nazir vd., 2018), düşük yağ içeriği nedeniyle kardiyovasküler hastalıklara karşı etkili olabileceği (Sabir ve Ahmad, 2010) göstermiştir. Bu meyvenin farklı kısımları birçok yerel topluluklarda bulaşıcı hastalık ve rahatsızlıklara karşı kullanılmaktadır. Örneğin meyvenin tohumları, Himalaya'da öksürük ve akciğer enfeksiyonlarına karşı bitkisel ilaçların içeriğinde bulunmaktadır (Sabir ve Ahmad, 2010).

Nazir vd. (2018), güzyemişi meyvelerinin kloroform, etil asetat ve bütanol fraksiyonlarının yüksek bir antioksidan özellik taşıdığını; kloroform ve etil asetat ekstraktlarının alfa-amilaz ve alfa-glukozidaza karşı oldukça aktif olduğunu belirlemişlerdir. Ekstraktlarla kloroform ve etil asetat fraksiyonlarının sıçanlarda Streptozotosin ile indüklenen Tip 2 diyabette hiperglisemiye kontrol etmede daha etkili olduğunu ve glikoz seviyesinde önemli bir azalma yaptığını saptamışlardır. Ayrıca, diyabetlilerde glutamat oksaloasetat transaminaz, serum glutamat piruvat transaminaz, alkalın fosfataz, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoproteinler ve trigliseritlerde düşüşe yol açtığını da gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar, güzyemişi meyvelerinin Tip 2

diyabet ve oksidatif stresin kontrolünde etkili olabileceğini ve diyabetle ilişkili ikincil komplikasyonları önlemeye katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Spínola vd. (2019), güzyemişi meyve ve yapraklarının antioksidan aktivitesi, fenolik bileşik kompozisyonu ile protein glikasyonu, Tip 2 diyabet ve obeziteyle ilişkili enzimleri inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. Lipaz,  $\alpha$ -glukozidaz,  $\alpha$ -amilaz ve aldoz redüktaz, yağ asitlerinin ve basit şekerlerin mevcudiyetini kontrol eden ve diyabet ve obezite riskinin artmasına neden olan sindirim enzimleri olduğunun altını çizerek *in vitro* koşullarda, güzyemişi özütlerinin, çoğu enzimin katalitik aktivitesi üzerinde engelleyici bir etki olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar inhibitör etkinin, fenolik bileşiklerle ilişkili olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca, hiperglisemiyle birlikte insan vücudunda, indirgen şekerlerle (glukoz, riboz, fruktoz...) proteinlerin amino asitlerinin (elastin, albümin) birleşmesiyle protein glikasyonunun meydana geldiğini ve bir dizi reaksiyonla, glikasyon son ürünlerinin (Advanced Glycation End-products; AGE) oluştuğunu, bunun da diyabetik komplikasyonlarda rol oynadığını bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda Güzyemişi ekstraktlarının içerdiği flavonoller ve ellagitanninler nedeniyle protein glikasyonunu ve AGE'lerin oluşumunu önlediğini, özellikle yaprak kısımlarının bu konuda daha etkili olduğunu tespit etmişler.

Özen vd. (2017), güzyemişi yaprak ve meyvelerinin fenolik madde içerikleri ile ekstraktların bazı enzimlere karşı inhibitör ve antiproliferatif aktivitelerini araştırmışlardır. Güzyemişi ekstraktlarının fumarik asit, hidroksibenzoik asit, rutin, kersetin-3- $\beta$ -D-glukozit, neohesperidin ve hesperidin gibi fenolik bileşiklerce zengin olduğunu, sulu ekstraktlarının, organik çözücülere (metanol, etanol, aseton, etilasetat, hekzan) göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini, tüm ekstraktların, özellikle de etil asetat özütlerinin, önemli derecede enzim (üreaz, asetilkolinesteraz, bütiril kolinesteraz) inhibasyon aktivitesine sahip olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca, yaprak ekstraktlarının yüksek antiproliferatif aktivite gösterdiğini de bildirmişlerdir.

Iannuzzi vd. (2020), güzyemişi meyvelerinden izole ettikleri 4 yeni triterpenoid bidesmosidik saponin, seskiterpenoid glukozit ile fenolik bileşiklerin insan dişeti fibroblastlar üzerine antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. İzole ettikleri bileşiklerden özellikle kamferol 3-O- $\beta$ -D-glukopiranasil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-galaktopiranozit-7-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozitin serbest radikal üretimini düşürdüğünü, inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığını dolayısıyla periodontitis lezyonlarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Nazir vd. (2020), güzyemişi meyve ekstraktlarının nöroprotektif ve anti-amnezik etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar güzyemişi meyvelerini fenolik bileşik kompozisyonu, antioksidan ve antikolinesteraz aktivite açısından deęerlendirmiŐlerdir. Asetil kolinesterazın (Acetylcholinesterase; ACHE), asetil kolin eksikliğine ve onunla ilişkili olduğu düŐünülen Parkinson ve Alzheimer hastalıklarına yol a tığının altını çizerek bu meyveden elde edilen klorojenik asitin ACHE aktivitesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Güzyemişinin hafıza ve diğer nörolojik bozuklukları önlemede iyi bir savaŐçı olabileceğini bildirmişlerdir.

Lee vd. (2021), *in vitro* koşullarda güzyemişinin antioksidan ve melanogenezin inhibisyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Melanom hücrelerinin melanin üretimi üzerindeki etkilerini araştırmak için güzyemişi dal ve yapraklarından elde ettikleri ekstraktları kullanmışlardır. Melaninin, UV radyasyon, tirozinaz gibi bazı enzimlerin etkisiyle melanom hücreleri tarafından  retildeğini, reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etmedeki olumlu etkisine rağmen, aşırı üretiminde sağlık sorunlarına (kanser) yol açabileceğini bildirmişlerdir. Güzyemişi ekstraktlarının güçlü antioksidan aktivite sergilediğini, tirozinaza karşı inhibitör aktivite göstererek melanin üretimini düzenlediğini rapor etmişler ve güzyemişinin bir terapötik ajan olduğunu ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Nazir vd. (2021), güzyemişi meyvelerinden izole ettikleri uçucu yağların antioksidan, antikolinesteraz ve antidiyabetik etkilerini incelemişlerdir. Güzyemişi esansiyel yağlarının oktadekanoik asit, linoleik asit,  -linolenik asit, fitol, p-vinilguaiakol gibi birçok biyoaktif madde içerdiğini ve serbest radikalleri temizleme ve zararlı etkilerini azaltmada önemli potansiyelleri olduğunu, Asetil kolinesterazın (ACHE) ve bütiril kolinesterazı (Butyrylcholinesterase; BCHE) da başarılı Şekilde inhibe edilebildiklerini, dolayısıyla nörolojik bozukluklardan korunmada etkili olabileceklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar,  -glukozidaz ve  -amilaza karşı da inhibitör etki gösterdiklerini, dolayısıyla diyabetin oluşumunu kontrol etmede yararlı olabileceğini kaydetmişlerdir.

Zglińska vd. (2021), güzyemiŐinin metanol-aseton ekstraktlarının, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen HFFF-2 fibroblastları üzerine etkisini incelemiŐlerdir. Ekstraktların HFFF-2 hücre proliferasyonunu arttırdığını ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı stresin neden olduğu hücre ölümünü azalttığını saptamıŐlardır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele edilmiŐ fibroblastların, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ekstraktla muamele edilmiŐ hücrelerden daha fazla serbest radikal üretimine yol açtığı

ve daha yüksek proinflamatuarsitokin (MIF, MCP-4, NAP-2, Eotaxin-2 ve Eotaxin-3) ekspresyonu gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Güzyemişi meyvelerinin antioksidan özelliği yanında antimikrobiyal özellikleri de bilinmektedir. Güzyemişi bitkilerinin çiçek, meyve, yaprak ve ağaç kabuğu gibi kısımlarının su ve organik çözücü ekstraktlarının antibakteriyel ve küf önleyici özellikleri rapor edilmiştir. Ekstraktlar, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı önemli derecede inhibisyon göstermişlerdir (Aziz vd., 2015; Sabir vd., 2007).

### **3.1.3. Güzyemişinin Değerlendirilmesiyle İlgili Yapılan Çalışmalar**

Güzyemişi meyveleri kuşlar yanında, hoş tatları nedeniyle insanlar tarafından da yaygın olarak tüketilmektedir (Wang ve Fordham, 2007). Gıda endüstrisinde yeni ürünlerin geliştirilmesinde önemli potansiyele sahip olup çiğ veya meyve suyu, şarap, reçel, jöle, sos, şekerleme, puding ve pestil gibi birçok ürüne işlenerek tüketilirler (Hussain, 2011; Patel, 2015; Sabir ve Ahmad, 2010). Hoş kokulu çiçekleri kozmetik ve parfüm formülasyonları için kullanılabilir (Sabir ve Ahmad, 2010).

Literatürde güzyemişinin değerlendirilmesiyle ilgili bilimsel çalışmalar oldukça azdır. Ishaq (2013), güzyemişi yenebilir film ile kaplayarak depolama stabilitesini araştırmıştır. Farklı muhafaza tekniklerini (sıcak su işleme, kitosan kaplama ve polietilen paketleme) denediği çalışmada; en iyi sonucun %2 kitosan ile kaplananlarda olduğunu bildirmiştir. Bu şekilde muhafaza edilenlerin hem duyuusal hem de antioksidan özelliklerinin daha iyi korunduğunu saptamıştır.

Ghellam vd. (2021), güzyemişi meyvesinin ozmotik kurutulmasının modellenmesi konusunda çalışmışlardır. Ozmotik sürecin optimizasyonunda, şurubun konsantrasyon ve sıcaklığının meyve/şurup oranından daha etkili faktörler olduğunu bildirmişlerdir.

Zannou vd. (2021), güzyemişi meyvelerinin konvektif kurutulması üzerinde çalışmışlar, kurutma sıcaklıklarının meyvenin antioksidan aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Ayrıca kurutma ve rehidrasyon süreçlerini modelleyerek sorbsiyon izotermi analiz etmişlerdir. Meyvelerin fonksiyonel özelliklerinin korunmasında sıcaklığın önemli olduğunu, düşünülenin tersine yüksek sıcaklığın (81°C) antioksidan aktiviteyi daha iyi koruduğunu bulmuşlardır.

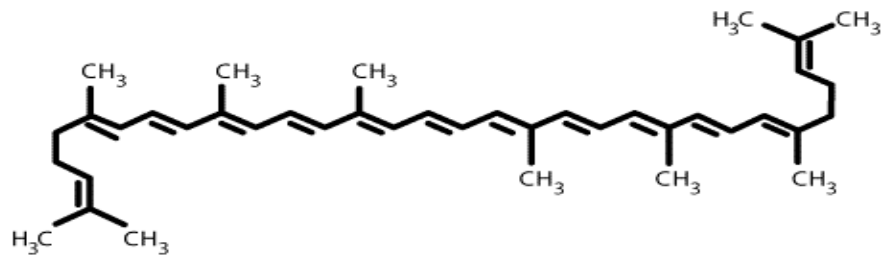
## 2.2. Likopen

Güzyemişi meyvesinin rengini veren karotenoid bileşiklerden biri olan likopenidir. Likopenin doğada birçok kaynağı vardır. Bu bölümde likopenin özellikleri, doğada bulunuşu, sağlık üzerine etkisi, ekstraksiyonu ve kapsülasyonu üzerinde durulmaktadır.

### 2.2.1. Likopenin Özellikleri ve Doğada Bulunuşu

Karotenoidler, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan pigmentlerdendir (Bruno vd., 2007). Karotenoidler içinde yer alan likopen, pembeden kırmızıya değişen bir renk verebilmektedir (Rocha vd., 2015). Likopen esas olarak bitkiler tarafından sentezlenmekle birlikte (Gerster, 1997), ıstakoz, flamingo gibi hayvanlarda bulunabilmekte veya bazı mikroorganizmalar tarafından oluşturulabilmektedir (Clinton, 1998).

Likopen, 8 izoprenoidden ( $C_{40}H_{56}$ ) oluşan basit hidrokarbon yapısına sahiptir (Şekil 2.1). Bu uzun zincir yapısı, biyolojik ve fizyolojik aktivitelerini sağlayan 11 konjuge çift bağ içerir (Lowe vd., 2018; Rocha vd., 2015). Doğal olarak, all-trans formunda bulunur. Yüksek sıcaklık, oksijen ve katalizör gibi farklı koşul ve işlemler altında mono- veya poli-cis izomerleri gibi birçok geometrik izomer formları oluşabilmektedir (Rocha vd., 2015; Stahl ve Sies, 2003).



Şekil 2.1. Likopenin kimyasal yapısı (Gupta vd., 2018).

Diğer karotenoidler gibi likopen, yağda ve apolar çözücülerde çözünebilen, hidrofobik bir bileşiktir (Sande, 2018). Siklik bir molekül olan  $\beta$ -karotenin aksine likopen, asiklik karotenler arasındadır. Buna ek olarak, polar ortamda ve yüksek konsantrasyonda, kristal olarak toplanma ve çökelme eğilimi göstermektedir (Lowe vd., 2018).

Likopen, doğada birçok yenebilen meyve ve sebzede bulunmaktadır (Tablo 2.3). Ayrıca, bazı yaprak, çiçek ve insan tarafından tüketilmeyen porsuk gibi meyvelerde bulunmaktadır. Daha öncede belirtildiği gibi, bazı hayvan ve alglerde de mevcuttur (Shahidi ve Brown, 1998). *Blakeslea trispora* gibi bazı mikroorganizmaların likopen ürettiği de bilinmektedir (Mantzouridou ve Tsimidou, 2008). Domates ve domates ürünleri, likopenin en iyi kaynakları olup günlük diyetle alınan likopenin % 50'sini oluşturmaktadır (Rao vd., 1998). Güzyemişinin likopen içeriğinin, domates ve ürünlerinden birkaç kat daha (5 ila 20 kat) yüksek olduğu bildirilmiştir (Fordham vd., 2002).

Likopen içeriği çeşitli faktörlerden etkilenir. Meyve çeşidi, olgunluk derecesi, ışık, sulama, sıcaklık, iklim gibi çevresel koşullar, depolama ve işleme koşulları gibi faktörler likopen içeriğine etki eder (Rocha vd., 2015; Sgherri vd., 2015). Özellikle ışık ve oksijen, likopen içeren ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında önemli faktörlerdir (Xianquan vd., 2005). Saf haline göre gıda matrisleri içerisinde bulunması likopen ek stabilite sağlayabilmektedir (Takeoka vd., 2001; Xianquan vd., 2005).

Tablo 2.3. Likopen kaynakları.

| Kaynak                  | Likopen (mg/100g)* | İçeriği, Literatür                       |
|-------------------------|--------------------|------------------------------------------|
| Domates                 | 3.93-17.1          | Helyes vd. (2003)                        |
| Karpuz                  | 3.46 - 8.00        | Nagal vd. (2012)                         |
| Papaya                  | 1.35-3.67          | Wall (2006)                              |
| Kuşburnu                | 12.9-35.2          | Böhm vd. (2003)                          |
| Güzyemişi               | 17-48              | Fordham vd. (2001)                       |
| Pembe greyfurt          | 3.32               | Sadler vd. (1990)                        |
| Trabzonhırmısı (kabuk)  | 4.03- 6.8          | Ebert ve Gross (1985)                    |
| Guava                   | 4.53-17.21         | Chandrika vd. (2009); Kong vd. (2010)    |
| Kabak                   | 0.32-7.34          | Ghosh ve Biswas (2016); Sojak vd. (2014) |
| Kırmızı havuç           | 8.9                | Mayer-Miebach ve Spiess (2003)           |
| Acı kavun çekirdek zarı | 27.3               | Saini vd. (2017)                         |

\*taze ağırlıkta

## 2.2.2. Likopenin Antioksidan Aktivitesi

Karotenoidlerin polien yapısında çift bağların bulunuşu, onlara ışığı absorbe etme yeteneği kazandırmaktadır. Ayrıca, karotenoid içeren gıdalar oksidatif stresi azaltan önemli bir antioksidan aktiviteye de sahiptirler (Stahl ve Sies, 2003). Likopen, serbest radikallerin temizlenmesinde önemli bir rol oynar (Kömüroğlu vd., 2018).

Elektron transferi, hidrojen verme veya radikale bağlanma yoluyla lipidlerin otooksidasyon hızını yavaşlatırlar (Lowe vd., 2018). Enerji transferinden sonra likopen radikali zarar görmeden kalır ve oksidasyon döngüsüne girmeye devam eder (Bruno vd., 2007).

Oksidatif hasarları önleme kabiliyetleri nedeniyle likopen yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Genel olarak, karotenoidlerin lipofilik özelliği nedeniyle likopen çoğunlukla hücre zarlarında ve lipoprotein bileşenlerinde bulunur (Rao ve Agarwal, 1999). Birçok çalışmada, likopenin hastalıkları azaltmadaki katkısı araştırılmıştır. Likopen takviyesinin hemodiyaliz hastalarında oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Xu vd., 2019). Ayrıca likopen ve yeşil çay ekstraktından oluşan antioksidan kombinasyonun, dişeti iltihabı hastalarında klinik parametrelerde bir iyileşmeye yol açtığı rapor edilmiştir (Tripathi vd., 2019).

### **2.2.3. Likopenin Sağlık Üzerine Etkisi**

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), tüm dünyada morbidite ve mortaliteye neden olan hastalıkların başında gelmektedir. *In vitro* çalışmalar, likopenin insanlarda KVH'yi önlemek için potansiyel bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Arab ve Steck, 2000). Likopenin aflatoksinin nefrotoksitesine ve kardiyotoksitesine karşı koruyucu etkileri olduğu rapor edilmiştir (Yılmaz vd., 2018). Ayrıca likopen, kimyasal tedavilerin yerini alabilecek anti-kanser ve anti-inflamatuar özelliklere sahip, ümit verici bir terapötik diyet ajanı olarak kabul edilir. Likopen tedavisinin prostat kanserinin ilerlemesini azalttığı ve inflamatuvar yanıtları baskıladığı bildirilmektedir (Jiang vd., 2019).

Nöroprotektif işlevi ve terapötik etkisi nedeniyle likopenin nörolojik sistemi tehdit edici bozukluklardan ve iltihaplardan korumak için ideal bir aday olabileceği öne sürülmüştür (Hua vd., 2019). Genel olarak karotenoidler veya spesifik olarak likopen, UV ile indüklenen oksidatif bileşiklerin söndürülmesinde rol oynar. Böylece ciltte olası kanserojen etkiye yol açan serbest radikallerin oluşumunu engeller (Clinton, 1998; Gerster, 1997). Likopen ve likopence zengin ürünlerin uygulanması, diyabetin önlenmesi ve tedavisi, glikoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde yardımcı olabileceği rapor edilmiştir (Yin vd., 2019).

#### 2.2.4. Likopenin Ekstraksiyonu

Birçok biyoaktif madde ve pigmentte olduğu gibi, karotenoidleri doğal matrislerden ayırmada çeşitli mekanik, kimyasal ve biyolojik teknikler kullanılır. Kaynağına bağlı olarak karotenoidin üretim ve işleme aşamaları da farklılık gösterir (Gong ve Bassi, 2016). Likopenin ekstraksiyonu ve saflaştırılması da farklı teknik ve yolla gerçekleştirilebilmektedir. Ekstraksiyonda, organik çözücüler, süperkritik akışkanlar veya enzim uygulamaları kullanılabilir. Bu teknikler, likopen verimini artırmaya yönelik mikrodalga, ultrason gibi sistemlerle birleştirilebilir, desteklenebilir (Ciriminna vd., 2016; Mussagy vd., 2019). Likopen ekstraksiyonunda sıcaklık, süre, çözücü konsantrasyonu, enzim çeşidi gibi verimi etkileyen birçok faktör vardır. Bu koşulların optimizasyonu, ekstraksiyon verimini artırmada etkili bir yoldur (Kunthakudee vd., 2020; Zuorro, 2020).

Birçok çalışmada, çeşitli hammaddelerden likopenin eldesinde verimi etkileyen faktörler incelenmiştir (Tablo 2.4). Lianfu ve Zelong (2008), domates salçasında mikrodalga ve ultrason destekli likopen ekstraksiyonu üzerinde çalışmışlardır. Hem ultrason hem de mikrodalga uygulanmasının tek başına ultrason uygulamasından daha verimli olduğunu bildirmişlerdir. Rahimpour ve Dinani (2018), ultrason ve enzimatik ön işlemler uygulayarak domates işleme atıklarından likopeni ekstrakte etmişlerdir. Yüzey yanıt metodolojisi kullanarak optimum şartları belirlemek için enzim konsantrasyonu (selüloz ve pektinaz), ultrason uygulama süresi ve pH gibi faktörleri değişken olarak almışlardır. Optimum koşullarda, 60 dak boyunca ultrasona tabii tutularak, pH 5,3'de sırasıyla 2.5g ve 0.8g/100g selüloz ve pektinaz kullanılarak yüksek likopen elde etmişlerdir.

Kunthakudee vd. (2020), çevre dostu çözücüler kullanarak domates pulplarından likopen ekstraksiyonu yapmışlardır. Numune-çözücü oranı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresini bağımsız değişken olarak seçmişler ve optimum ekstraksiyon koşullarını araştırmak için Box-behnken tasarım yöntemi ve yüzey yanıt metodolojisini kullanmışlardır. Optimum likopen eldesinde; optimum koşulları 1:50 oran, 45°C ve 45 dakika olarak belirlemişlerdir. Bu koşullarda likopen geri kazanımını % 80 olarak hesaplamışlardır.

Zuorro (2020), ön işlem uygulanmamış domates kabuklarından likopenin geri kazanımını üzerine çalışmıştır. Araştırmada, etil laktat, hekzan, etanol ve aseton çözücülerıyla geleneksel ekstraksiyonu ve karışım tasarım metodolojisini kullanmış,

en uygun ekstraksiyon karışımını formüle etmiştir. Optimum özütleyici karışımın uygulamasıyla (%30.6 n-hekzan, %32.8 etanol ve %36.6 aseton) ve 40 °C'de, yüksek likopen geri kazanımı (%95) gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.4. Farklı matematiksel teknikler kullanılarak farklı kaynaklardan likopen verim geri kazanımının optimizasyonu üzerine yapılan çalışmalar.

| Materyal                                      | Matematiksel yöntem      | Ekstraksiyon Tekniği ve şartları                                                                                                                                  | Çözücü                                                          | Optimum koşullar                                                                                          | Kaynak                        |
|-----------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Domates sosu</b><br><b>Domates salçası</b> | Simpleks merkezli dizayn | Solvent ekstraksiyon, Farklı solvent oranlarında karışım (%0-100:%0-100:%0-100).                                                                                  | Hekzan:<br>Aseton<br>: Etanol                                   | -Domates (47.80:15.1:3 7.1)<br>-Domates sosu (59.10: 6.1: 34.8)<br>-Domates salçası (58.70: 18.11: 23.10) | Periago vd. (2004)            |
| <b>Domates kabukları</b>                      | Simpleks merkezli dizayn | Solvent ekstraksiyon Farklı solvent oranlarında karışım (%0-100:%0-100).10, 25, 40 °C'de.                                                                         | Hekzan :<br>Aseton : Etanol/<br>Etillaktat :<br>Aseton : Etanol | %30.6:<br>%36.6:<br>%32.8, 40 °C<br>(%98.56 gerikazanım)                                                  | Zuorro (2020)                 |
| <b>Domates salçası</b>                        | Box-Behnken dizayn       | Solvent ekstraksiyon 1:40-1:80, 30-50 °C, 15-45 dak                                                                                                               | Etanol/bitkisel yağ                                             | 50:1, 45 °C, 45 dak                                                                                       | Kunthakudee vd. (2020)        |
| <b>Domates atıkları</b>                       | Faktöriyel dizayn        | Solvent ekstraksiyon 30-50° C, 1-60 dak, n-hekzanda aseton, %25-75, solvent hacmi % 10-30.                                                                        | Aseton<br>Hekzan                                                | 20 °C, 40 dak, n-hezanda % 25 (v/v) ve 40 ml solvent hacmi                                                | Poojary ve Passamonti (2015a) |
| <b>Domates atıkları</b>                       | Box-Behnken dizayn       | Çözücü karışımında hekzan (%10-80), çözücü: atıkoranı (3:1-10:1, v/w), 0.5-1 mm partikülboyutu.                                                                   | Etanol<br>hekzan<br>Etilasetat<br>Aseton                        | 45% hekzan karışımında, 9.1:1 çözücü: atıkoranı, ve 0.56 mm partikülboyutu.                               | Strati ve Oreopoulou (2011)   |
| <b>Domates salçası</b>                        | Merkezi kompozit dizayn  | Ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (UMAE): 270-450s; 70-100W; 7.5:10.5(v/w)<br>-Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE): 20-40dak; 60-80 °C; 5.5:8.5 (v/w) | Etilasetat                                                      | UMAE: 98 W; 367 s; 10.6:1<br>UAE: 86.4 °C; 29.1 dak, 8.0:1.                                               | Lianfu ve Zelong (2008)       |

|                                                           |                                |                                                                                                                                                                                                          |                                                                      |                                                                                        |                               |
|-----------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Gac kabukları</b>                                      | Box–Behnken dizayn             | 90–150 dak, 30–50 °C, solvent–katı oranı 10–80 mL/g                                                                                                                                                      | Etilasetat                                                           | 150 dak, 40.7 °C, 80 mL /g                                                             | Chuyen vd. (2017)             |
| <b>Domates kabuğu ve tohumları</b>                        | Tamamen Rastgele dizayn (CRD). | Solvent ekstraksiyon Sıcaklık (30, 40 ve 45 °C), süre (1, 5, 10 saat), solvent besleme oranı (1:10, 1:20 ve 1:30)                                                                                        | Hekzan<br>Petroleter<br>Aseton<br>Etanol<br>Etilasetat               | Aseton:<br>Etilasetat, 40 °C, 5 saat ve 1:30                                           | Pandya vd. (2017)             |
| <b>Kurutulmuş Domates İşleme atıkları, kabuk ve tohum</b> | Merkezi Kompozit dizayn        | Ultrasonik ön işlem ve enzimatik uygulama selüloz (%0–10), pektinaz (%0–5), ultrasonik süre (0–60 dak) ve pH (3.5–5.5).                                                                                  | Hekzan<br>Aseton<br>Metanol                                          | Selüloz (2.5 g/100 g k.m), pektinaz (0.8 g/100 g k.m), 60 dak ultrason uygulama, 5.3pH | Rahimpour ve Dinani (2018)    |
| <b>Domates İşleme atığı, (tohum hariç)</b>                | Matematiksel modelleme         | Solvent ekstraksiyon 1:3, 2:2 ve 3:1, v/v 30, 40 ve 50 °C.                                                                                                                                               | Aseton:<br>Hekzan                                                    | 30 °C, aseton/hekzan 1:3 (v/v)                                                         | Poojary ve Passamonti (2015b) |
| <b>Domates işleme atığı, kabuk</b>                        | Merkezi kompozit dizayn        | Solvent/atık oranı 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, ve 60:1 (v/w); ekstraksiyon sayısı 1, 2, 3, 4 veya 5 kez; 0.05, 0.15, 0.25, 0.35 ve 0.43 mm partikül boyutu; 20, 30, 40, 50 ve 60 °C; 4, 8, 12, 16 ve 20 dak. | Hekzan:<br>Aseton:<br>Etanol (2:1:1)                                 | 30:1 v/w, 50 °C, 0.15 mm, 8 dak, 4 kez ekstraksiyon                                    | Kaur vd. (2008)               |
| <b>Karpuz</b>                                             | Merkezi kompozit dizayn        | Solvent ekstraksiyon, Ekstraksiyon sayısı 1, 2, veya 3 kez; 1, 2 ve 3 saat; 25, 30 ve 35 °C.                                                                                                             | Etilasetat,<br>Hekzan<br>(%2 Diklorometan),<br>Aseton ve Petrol eter | Hekzan (%2 diklorometan), 1.9 saat, 29.8 °C ve 2 kez ekstraksiyon.                     | Shi vd. (2012)                |
| <b>Kurutulmuş Domates İşleme atıkları, kabuk ve tohum</b> | ANOVA                          | Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) ile Geleneksel organik solvent ekstraksiyon (COSE)                                                                                                                  | Hekzan:<br>aseton:<br>etanol (2:1:1)                                 | UAE, 35:1 v/w, 90 W, 30 dak. COSE: 50:1 v/w, 60 °C, 40 dak                             | Kumcuoglu vd. (2014)          |
| <b>Kurutulmuş Domates İşleme atıkları, kabuk</b>          | Tek yönlü ANOVA                | Enzimatik destekli solvent ekstraksiyon pektinaz %1, 1.5, 2, 2.5 ve 3 w/v; 50–250 rpm çalkalama hızı; 4.5, 5, 5.5, 6 ve 6.5 pH; 30–70 °C; 1, 2, 3, 4 ve 5 saat.                                          | Hekzan:<br>aseton:<br>etanol (2:1:1)                                 | % 2 pektinaz, 5.5 pH, 4 saat, 45 °C ve 150 rpm.                                        | Munde vd. (2017)              |

## 2.2.5. Likopenin Kapsülasyonu

Kapsülasyon son yıllarda nutrasötik eldesinde ve biyoaktif bileşenlerin termal ve ışık stabilitelerinin artırılmasında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu bölümde kapsülasyonun amaçları, kapsülasyon teknikleri ile likopenin kapsülasyonunda kullanılan teknikler ele alınmıştır.

### 2.2.5.1. Kapsülasyon

Günümüzde fonksiyonel gıdalar ve nutrasötiklere talep oldukça fazladır. Bir taraftan bu talebi karşılamak, bir taraftan da çeşitli vitamin, antioksidan, mineral ve biyoaktif bileşik içeren yeni ürünler üretme ve ticari gelişmeler için yoğun tempoda çalışılmaktadır. Kapsülleme veya mikro, nano kapsülleme olarak da adlandırılan teknikten bu amaçlar için yararlanılmaktadır (Sanguansri ve Augustin, 2010). Kapsülleme kelimesi, Latince'den türemiş olup *en* ön eki “**içeri**”, *capsula* kelimesi ise “**küçük bir kutu**” anlamına gelmektedir (Meirowitz, 2019).

Mikrokapsüller (mikropartiküller veya mikroküreler) esas olarak iki bileşenden oluşur. İlki çekirdek, diğeri bunu kaplayan duvar veya kabuk malzemesidir (Jyothi vd., 2010). Biyoaktif çekirdek malzemelerin kaplanması polisakkaritler, nişastalar, proteinler, yağlar, mumlar gibi doğal ve sentetik duvar malzemeleri kullanılmaktadır (Tablo 2.6) (Meirowitz, 2019). Mikrokapsüller, boyutlarına (mikrokapsüller ve nanokapsüller) veya morfoloji türlerine göre (monocore, polycore ve matrix) sınıflandırılabilir (Dubey vd., 2009).

Genel olarak, biyoaktif bileşikler değişik amaçlarla kapsüllenmektedir. Daha önce de değinildiği gibi, bu amaçlar; (i) hassas ve fonksiyonel bileşikler dış ortamdan korumak, (ii) aktivitelerini korumak ve maddelerin birçok faktöre (oksijen, ısı, radikaller vs) karşı stabilitesini artırmak, (iii) tat ve renkleri maskelemek veya diğer bileşiklerle etkileşim yoluyla kayıpları önlemek, (iv) kontrollü ve zamanlanmış salınım gerçekleştirme, (v) kapsüllenmiş malzemelerin çözünürlüğünü, dağılılabirliğini ve raf ömrünü artırmak şeklinde sıralanabilir (Dubey vd., 2009; Ghosh, 2006; Gibbs vd., 1999; Jyothi vd., 2010).

Gıda takviyesi veya nutrasötik üretiminde bazı biyoaktif bileşiklerde olduğu gibi likopenin korunması ve dayanıklılığının artırılmasında en güvenli yollardan biri kapsülasyondur. Likopen tek başına veya diğer karotenoidlerle, hatta çeşitli antioksidan ve fitokimyasallarla birlikte kapsüle edilebilmektedir (DeFreitas vd.,

2003). Son zamanlarda, farklı kapsülleme teknikleri (Tablo 2.5), koşulları ve çeşitli teknolojik parametreler yaygın çalışılan konulardan biri olmuştur. Çekirdek malzeme olarak likopen dahil birçok fitokimyasalın kapsüllemesinde birçok yöntem ve kaplayıcı (duvar malzemeler) (Tablo 2.6) kullanılmıştır (Jain vd., 2020; Rocha-Selmi vd., 2013a; Shu vd., 2006; Souza vd., 2018).

Tablo 2.5. Gıda endüstrisinde kullanılan bazı mikroenkapsülasyon teknikleri (Ghosh, 2006; Meirowitz, 2019; Sanguansri ve Augustin, 2010).

| Fiziksel Yöntemler                             | Kimyasal Yöntemler                  |
|------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Püskürterek kurutma                            | Basit/ kompleks koaservasyon        |
| Dondurarak kurutma                             | Solvent buharlaştırma/ ekstraksiyon |
| Akışkan yataklı kaplama                        | Siklodekstrin kompleksi             |
| Süperkritik akışkan CO <sub>2</sub> yardımıyla | Lipozomlar                          |
| Püskürterek dondurma                           | Süspansiyon polimerizasyonu         |
| Döer disk-dönen disk                           | Dispersiyon polimerizasyonu         |
| Elektrostatik kapsülleme                       | Emülsiyon polimerizasyonu           |
| Vakum kapsülleme                               | Arayüzey polimerizasyonu            |
| Çoklu nozul püskürtme                          | Sol-jel enkapsülasyon               |
| Merkezkaç teknikleri                           | İyonotropik jelleşme                |
| Merkezkaç ve basınçlı ekstrüzyon               | Polikondenzasyon                    |
| Tava kaplama                                   | Tabaka-tabaka toplama veya birleşme |

Tablo 2.6. Kapsüllemede kullanılan bazı fiziksel ve kimyasal teknikler ve kaplama materyalleri (Ozkan vd., 2019).

| Teknik                                  | Kaplama Materyalleri                                                                                                          |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Püskürterek kurutma, dondurarak kurutma | Gam arabik, maltodekstrin, siklodekstrin, kitosan, inulin, ksantan gam, soya protein isolatı, peyniraltı suyu protein isolatı |
| Süperkritik akışkan tekniği             | Etil selüloz, polietilen glikol, polimetil metakrilat                                                                         |
| Koaservasyon ve lipozomlar              | Jelatin, gam arabik, pektin, kitosan, kazein, peyniraltı suyu protein isolatı, kitre zatkı, kaju zatkı                        |
| İyonik jelleşme                         | Sodyum aljinat, pektin                                                                                                        |

### **2.2.5.2. Kapsülasyonda Kullanılan Teknikler**

Biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonunda fiziksel ve kimyasal birçok teknik kullanılmaktadır. Burada, enyaygın kullanılanlara kısaca değinilmiştir.

#### **A- Püskürterek Kurutma**

Gıda endüstrisinde, püskürterek kurutma tekniği, özellikle son yıllarda kapsüllemeye yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik aynı zamanda, bazı içeceklerin kurutulması ve süttozu üretiminde de kullanılmaktadır. Diğer kapsülleme tekniklerinden farklı olarak, püskürterek kurutma, uygun maliyete sahiptir. Tat ve aroma maddelerinin ve yağların kapsüllemesinde yaygın kullanılmaktadır (Desai ve Park, 2005; Gibbs vd., 1999). Çekirdek malzeme, duvar (kaplayıcı veya taşıyıcı) malzeme çözeltisi içinde dağıtılır ve homojenize edilir. Elde edilen çözelti (emülsiyon, süspansiyon), suyun ve/veya uçucu çözücülerin buharlaştırılacağı ısıtılmış bölmede atomize edilmek üzere pompalanır. Son olarak duvar malzemesi çekirdek üzerinde katılaştırılarak mikrokapsüller üretilir (Dubey vd., 2009). Biyoaktif bileşiklerin kapsüllemesinde, bileşiklerin ısı duyarlılığı, kaplama materyalinin özellikleri, bazı bileşenlerin varlığı gibi birçok faktör dikkate alınmalıdır (Ozkan vd., 2019).

#### **B- Dondurarak Kurutma**

Dondurarak kurutma, liyofilizasyon olarak da bilinir. Numunenin önce dondurulması, ardından farklı vakum seviyelerinde (negatif basınç) tutularak kurutulmasıyla gerçekleştirilir. Bu teknik çoğunlukla, sıcaklık, oksijen gibi etkilere karşı yüksek hassasiyete sahip olan bileşenlerin ve fitokimyasalların kapsüllemesinde tercih edilmektedir. Antioksidanlar, aromalar ve diğer hassas bileşiklerin kapsüllemesinde önemlidir (Ozkan vd., 2019; Tontul ve Topuz, 2015). Basit bir teknik olmasına rağmen, kurutmanın maliyetinin fazla olması ve 20 saatten daha uzun sürebilmesi gibi bazı dezavantajları da vardır. Ayrıca, dondurularak kurutulan kapsüllemiş malzemelerin poröz yapısı, toz hale getirmek için ezilme ve öğütme ihtiyacının olması, dolayısıyla farklı boyutlarda partiküllerin üretilmesine ve kapsüllemiş çekirdek malzemelerin patlamasına yol açmaktadır (Desai ve Park, 2005; Lee ve Wong, 2014; Ozkan vd., 2019).

### **C- Kompleks Koaservasyon**

Koaservasyon veya faz ayırma, en eski kaplama tekniklerinden biri olup ticari mikrokapsüllemelerde başarıyla kullanılmaktadır. Son zamanlarda, su veya yağda çözünen aktif bileşenlerin kapsüllemesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Koaservasyon basit (tek polimer içeren, örneğin jelatin) veya kompleks (iki veya daha fazla polimer türü) olarak sınıflandırılabilir. En sık kullanılan koaservasyon yöntemi kompleks koaservasyondur. Koaservasyonun indüklenmesi, pH, sıcaklık, çözücülerin veya tuzların eklenmesi gibi bazı değişkenler değiştirildikten sonra başlatılabilir (Ho vd., 2020; Kissel vd., 2006; Lee ve Wong, 2014; Markus ve Linder, 2006). Örneğin, kompleks koaservasyon prosesinde pH değişimi, karışmayan fazların oluşumu ile gerçekleşir. Bu süreçte, zıt yüklü protein (örneğin jelatin) ve polisakkarit polimerler (gam arabik, pektin gibi) bir araya gelip kompleksi (koaservat) oluştururlar. Kaplama malzemelerinin çekirdek malzemeler üzerine çökeltilmesiyle, mikrokapsüller, kaplamaların sertleştirilmesi (kurutma) ile nihai olarak elde edilebilir (Carpentier vd., 2021; Jyothi vd., 2010). Koaservat üretim sürecini tamamlamak için püskürtmeli kurutma, fırında kurutma ve liyofilizasyon gibi için birçok kurutma tekniği uygulanmaktadır (Ho vd., 2020).

### **D- Fırın ve Mikrodalga Kurutma**

Fırın ve mikrodalga, ham ve işlenmiş gıda maddeleri ile preparatlardan suyun uzaklaştırılmasında kullanılan kurutma teknikleridir. Toz ve kapsül üretiminde, kapsülasyonda kurutma amacıyla kullanılabilirler (Barba vd., 2015; Ho vd., 2020). Fırında kurutma, malzemenin nemini buharlaştırmak için ısıtma uygulamasına dayanır. Kurutma sürecini kontrol etmede ve istenilen ürün kalitesine ulaşmada sıcaklık derecesi, kurutma süresi ve hava hızı gibi faktörler önemlidir (Gibbs vd., 1999; Ho vd., 2020). Mikrodalga kurutma, numunelerin elektromanyetik ışınlamasına dayanır, bu da hızlı bir ısınmaya neden olur ve hızla kuruma sağlanır. Bu yöntemde kurutma işleminin verimliliği, güç çıkışı, süre ve ürün özellikleri gibi birçok faktöre bağlıdır (Barba vd., 2015). Bu teknik, kısa sürede kapsüller için daha kararlı bir sistem üretebilir (Gibbs vd., 1999). Kaplama etkinliği, toz verimi ve tozun morfolojisi kurutma tekniklerine bağlı olarak değişir (Ho vd., 2020).

### **2.2.5.3. Kaplama Malzemeleri**

Biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonunda birçok polisakkarit, nişasta, protein, yağ gibi doğal ve sentetik kaplama malzemeleri kullanılmaktadır. Burada yaygın olarak kullanılan kaplama malzemeler ile özellikleri üzerinde durulmuştur.

#### **A- Gam Arabik**

Gam arabik yani Arap zımkı, gıda ve ilaç endüstrisinde birçok preparatta kullanılan temel bileşendir. Tat ve kokuyu muhafaza etme, ürünün tatlılığını azaltma ve emülsifiye etme kapasitesine sahip olan bu madde biyoaktif ve uçucu bileşiklerin kapsüllenmesinde kullanılır (Madene vd., 2006). Gam arabik, akasya ağacından (doğal sızıntı) elde edilen polisakkarit zincirin doğal bir hidrokolloiddir. Basit şekerler (arabinoz, ramnoz, galaktoz), glukuronik asit ve protein fraksiyonunun oldukça fazla dallanmasıyla oluşmuştur. Bu karışım, işlevsel özelliklerinin belirlenmesinde rol oynar. Diğer zımkılarla karşılaştırıldığında, gam arabik daha fazla suda çözünürlük, daha yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite ve su içinde yağ sistemleri için mükemmel emülgatör özellik gösterir (Turchiuli vd., 2005). Bununla birlikte, özellikle enkapsülasyonda, bu duvar malzemesinin pahalı olması gibi nedenlerden dolayı ikameye gidilir. Maltodekstrinler gibi daha ucuz polisakkaritlerin ikamesi maliyetleri azaltsada benzer özellikler sunamamaktadır (Madene vd., 2006; Turchiuli vd., 2005). Son yıllarda yapılan kapsülleme çalışmalarında çekirdek/kaplama materyali oranı, diğer kaplama malzemeleriyle karışım, emülsifikasyon ve kaplamanın etkinliği için kullanılacak minimum içerik gibi konular üzerinde durulmaktadır.

#### **B- Maltodekstrin**

Maltodekstrin, kapsülleme sistemlerinde kullanılan bir polisakkarittir. Nişastanın asidik veya enzimatik yollarla kısmi hidroliziyle üretilir. Elde edilen maltodekstrin polimerleri, dekstroz eşdeğerleri (DE) değerlerine göre hidroliz derecesini gösterir. Maltodekstrinler 20 DE'den düşük ve suda yüksek çözünürlüğe sahiptir. Kaplama malzemelerinin maliyeti ve etkinliğini dengelemek için maltodekstrin, biyoaktif bileşikler kapsüllemeye en sık başvuru alan polimerlerden biridir. Bununla birlikte, emülsifiye etme kapasitesinin olmaması dezavantajlı yönüdür. Gam arabik gibi bazı emülsifiye edici ajanların ve polimerlerin eklenmesi bunu telafi etmektedir (Madene vd., 2006; Turchiuli vd., 2005). Ayrıca, maltodekstrin ve gam arabik karışımı, yağ kapsülleme çalışmalarında her iki polimerin saf halinden

daha yüksek enkapsülasyon etkinliği sağlamaktadır (Turchiuli vd., 2014; Turchiuli vd., 2005).

### **C- Jelatin**

Jelatin, kapsülleme uygulamalarında yaygın kullanılanlardan biridir. Hayvan kolajeninden asidik hidroliz ile üretilen bir polipeptit polimeridir. Hidroliz pH'ına göre tip A (pH 8-9) ve tip B (pH 4-5) olarak iki türe ayrılır. Jelatin, belirli bir pH aralığında suda çözünürlük, yüksek viskozite, çapraz bağlanma kapasitesi, emülsifiye etme yeteneği ve elektrik yükü gibi birçok özellik gösterir. Özellikleri nedeniyle özellikle kompleks koaservasyon tekniğiyle enkapsülasyonda yaygın olarak kullanılmıştır. Koaservasyon sisteminde jelatin; agar, kitosan, gam arabik ve pektin gibi negatif yüklü polisakkaritlerle eşleştirilmiş polikasyonlardır. Bu eşleştirme, karmaşık çözünürlüğün azalmasına (faz ayrılması) ve çekirdek bileşenin polimerlerin yapısı içinde tutulmasına neden olur (Shaddel vd., 2018; Yan ve Zhang, 2014). Jelatin ve diğer polimerlerin içeriği, en iyi yükleme kapasitesi için formülasyonu belirlemede temel bir faktördür (Shaddel vd., 2018).

### **D- Pektin**

Pektin, fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir bileşendir. Pektin, esas olarak bitki hücrelerinin (portakal, elma vs) yapısında bulunan doğal bir polisakarittir. D-Galakturonik asit üniteleri ve metoksil gruplarını oluşturmak için  $\alpha$ -1,4 bağlarıyla oluşan uzun zincirli bir yapıya sahiptir. Kıvam artırıcı, jelleştirici ajan olarak ve bazı ilaçlarda kullanılır. Negatif yüklü pektin, pozitif yüklü proteinle (jelatin, kazein, peynir altı suyu proteinleri gibi) etkileşir, böylece kompleks koaservasyonda, mikropartiküllerin oluşumunu sağlar (da Silva Soares vd., 2021; Yan ve Zhang, 2014). Gıda sistemlerinde biyoaktif bileşiklerin kapsüllenmesinde, pektin birçok çalışmada başarıyla kullanılmıştır (Rutz vd., 2017; Silva vd., 2012a).

### **Likopenin Kapsülasyonu İlgili Yapılan Çalışmalar**

Likopen kapsüllemede kullanılacak en uygun teknikleri ve parametreleri belirlemek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Çoğu yöntem ve materyal, kapsülleme etkinliğini artırmış, yüksek likopen alıkonumu sağlamıştır. Üretilen likopen kapsülleri, doğrudan tüketim ve zenginleştirmede başarıyla kullanılmıştır.

Shu vd. (2006), kaplama materyali olarak jelatin ve sakaroz kullanarak püskürtmeli kurutma yöntemi ile likopen kapsülasyonu yapmışlardır. Giriş-besleme sıcaklıkları, çekirdek-duvar oranı, homojenizasyon basıncı gibi parametrelerin kapsülasyon verimini önemli ölçüde etkilediğini bulmuşlardır. Kapsüllemiş ürünün depolama stabilitesi artmıştır. Aynı kurutma yöntemini kullanarak, Nunes ve Mercadante (2007), gam arabikin likopenin kapsülasyonu için mükemmel bir seçim olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, likopenin  $\beta$ -siklodekstrin ( $\beta$ - Cyclodextrin;  $\beta$ -CD) ile moleküler inklüzyon ve dondurarak kurutma yoluyla kurutulmasında, püskürtmek kurutmada çatlak ve kırılma olmadan girintili yapı sonucunda kaplamanın etkinliğinin yaklaşık %51 olduğunu belirlemişlerdir. Dondurarak kurutmada ise likopenin %50'sinin  $\beta$ -CD kompleksi oluşturmadığını saptamışlar ve kurutma etkinliğinde, oksidasyon ve izomerizasyondan kaçınmak gerektiğinin önemini vurgulamışlardır.

Souza vd. (2018), maltodekstrin ve modifiye nişastayla kapsüle edilen ve edilmeyen domates konsantresini püskürtmeli kurutucuyla kurutmuşlardır. Likopenin kapsüle edilenlerde önemli derecede korunduğunu, antioksidan aktivitenin de arttığını belirlemişlerdir. Zardini vd. (2018), likopen nano taşıyıcıları hazırlamada dondurarak kurutma tekniği kullanmışlar ve elde edilen tozların fiziko-kimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Yüksek yükleme ve kapsülleme etkinliği belirlemişlerdir. Gıdaların zenginleştirilmesinde likopen nanopartikül uygulanmasının suda çözünürlüklerinin iyileştirilmesi ve istenmeyen tatların maskelenmesinde başarılı olduğunu aktarmışlardır.

Cheng vd. (2017), likopen/lesitin/ $\alpha$ -tokoferol oranları, CO<sub>2</sub> akış hızı, basınç, sıcaklık parametreleri açısından optimize etmek ve stabilitesini araştırmak için süperkritik destekli antisolvent tekniği kullanmışlardır. Lesitin ve  $\alpha$ -tokoferol kullanılarak süperkritik olarak kapsüle etmenin likopenin oksidatif stabilitesini artırdığını ve 28 gün boyunca 4 °C de % 10'dan daha az bozunmanın gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Silva vd. (2012b), jelatin ve pektin kullanarak kompleks koaservasyon tekniğiyle likopen kapsüllemişlerdir. Kaplamada kullanılan materyallerin uygun olmaması, uygulanan dondurma ve liyofilizasyon işlemleri nedeniyle zayıf bir korumanın meydana geldiği ve depolamaya bağlı olarak doğrusal bir bozulma (haftada ortalama % 14) olduğunu ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan, Rocha-Selmi vd. (2013a), jelatin ve gam arabik kullanarak kompleks koaservasyon yoluyla likopenin

mikrokapsüllenebileceğini, dondurarak kurutma işleminin koaservatın kurutulması için verimli olduğunu, kapsülleme verimliliğinin % 90'ın üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Karotenoidin biyoyararlanımını iyileştirmek için, Madhavi ve Kagan (2008), siklodekstrinler CD ( $\alpha$ ,  $\gamma$  ve hidroksipropil  $\beta$ ) ve tek başına veya karışım halindeki karotenoidlerin kompleks oluşturmasının *in vitro* koşullarda sindirimi kolaylaştırdığını bildirmişlerdir. Bunun için özellikle likopenin CDS komplekslerinin lipozomal preparasyonlarla karşılaştırıldığında  $\gamma$ -CD kompleksinde biyoyararlılığın daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Matioli ve Rodriguez-Amaya (2003), guavadan ekstrakte edilen likopenin  $\gamma$ -CD ile mikrokapsüllendiğinde daha fazla stabilizasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. 1:200 oranında (likopen /  $\gamma$ -CD) maksimum inklüzyon elde edildiğini, su dispersiyonunu, ışık ve oda sıcaklığında depolama stabilitesini arttırdığını kaydetmişlerdir.

Tablo 2.7. Likopenin farklı yöntemler ile mikrokapsülasyonu.

| Likopen kaynağı            | Kaplama materyali                                | Enkapsülasyon tekniği, şartları                                                                                                      | Çalışmanın amacı                                                                                                                                                                     | Kaynaklar                  |
|----------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Domates pulpu ekstraktları | Jelatin/sakarov                                  | Sprey kurutma<br>55°C besleme sıcaklığı,<br>190° C giriş sıcaklığı                                                                   | Kapsüllenmiş likopenin izomerizasyonu, kararlılığı, parçacık büyüklüğü, dağılımı, dış ve iç yapıların karakterizasyonu                                                               | Shu vd. (2006)             |
| Domates posası atıkları    | Jelatin ve poli $\gamma$ -glutamik               | Emülsiyon (40° C'de) +dondurarak kurutma -30° C'de dondurma 30 dakika ve 55 mTorr'luk bir vakum altında 30 saatte dondurarak kurutma | Domates posalarından likopen ekstraktı ve jelatin ve $\gamma$ -PGA ile kapsülleme                                                                                                    | Chiu vd. (2007)            |
| Taze domates               | Gam arabik ve sakarov, siklodekstrin Tween 20    | Sprey kurutma 30 mL/dak hava akış hızı, 170 ve 113 °C giriş ve çıkış sıcaklığı, Inklüzyon/dondurarak kurutma                         | Kapsül likopen eldesinde sprej kurutma ve inklüzyon/dondurarak-kurutma işlemlerinin karşılaştırılması                                                                                | Nunes ve Mercadante (2007) |
| Taze domates               | $\alpha$ -, $\beta$ - ve $\gamma$ -siklodekstrin | Liyofilizasyon, Süperkritik akışkan-CO <sub>2</sub>                                                                                  | Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile all-trans-likopenin siklodekstrin ile seçici ekstraksiyon, fraksiyonlama ve kapsülleme; kompleksin stabilitesini ve izomerizasyonunu belirleme | Blanch vd. (2007)          |

|                                                                                 |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                               |                             |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Likopen içeren yağ çözeltileri                                                  | Modifiye nişasta                                                                                      | Sprey kurutma, 180 °C giriş ve 98 °C çıkış sıcaklıkları                                                                                                                         | Mikrokapsülleri karakterize etmek, karotenoidin depolama sırasındaki stabilitesini değerlendirme, kapsülleri keke katarak rengi değerlendirme                                 | Rocha vd. (2012)            |
| % 20 likopenin yağ dispersiyonu; ayçiçek yağı içinde dağılmış Saf likopen (95%) | Sığır jelatini ve düşük metil esterli pektin                                                          | Kompleks koaservasyon + dondurarak kurutma. Kurutma süresi 24 saat, liyofilizasyon sıcaklığı, -60 ° C; basınç, 1-0.1 kPa; son sıcaklık, 25°C                                    | Likopen mikrokapsülleri üretme, karakterize etme ve serbest likopenle karşılaştırılma, stabilitelelerini değerlendirme                                                        | Silva vd. (2012a)           |
|                                                                                 | Maltodekstrin (6, 12 ve 21 DE)                                                                        | Emülsiyon, nemsiz hava sprej kurutma                                                                                                                                            | Modifiye edilmiş bir sprej kurutma sistemi kullanarak elde edilen likopen mikrokapsülleme verimi için yeni bir teknik geliştirmek ve optimum koşulları belirlemek             | Goula ve Adamopoulos (2012) |
| Yağda dağılmış likopen                                                          | Jelatin ve Gam arabik                                                                                 | 50°C'de kompleks koaservasyon, 3 dakika boyunca 10.000 rpm, pH 4.0 ve 3 ° C'de partikül çökeltmesi liyofilizasyon -60°C'deki kondansatör, 10 <sup>-1</sup> mbar                 | Kompleks koaservasyonla likopeni mikrokapsülleme, karotenoidlerin depolama sırasındaki stabilitesini ölçme, mikrokapsülleri keklere katma ve renk stabilitesini değerlendirme | Rocha-Selmi vd. (2013b)     |
| Taze domates işleme sanayi atıkları                                             | Sakaroz ve Jelatin                                                                                    | Püskürtmeyle kurutma 160, 170 ve 180 °C giriş sıcaklığı                                                                                                                         | Domateslerde likopen içeriğinin korunmasını geliştirmek için konvektif kurutma ve püskürtmeli kurutma koşullarını inceleme                                                    | Ranveer vd. (2015)          |
| Ticari likopen                                                                  | Sakaroz, palmitik asit esterleri, $\beta$ -siklodekstrin, lesitin, $\alpha$ - tokoferol               | Süperkritik anti-solvent (SAS) işlemi; sıcaklık 35, 45, 55 °C                                                                                                                   | Yüksek oksidatif stabiliteli likopen kapsüllemeye başarılı SAS süreci geliştirme                                                                                              | Cheng vd. (2017)            |
| Domates tozu                                                                    | Maltodekstrin ve gam arabik                                                                           | Püskürtmeli kurutma 4, 6, 9 ve 12 ml dak <sup>-1</sup> akış hızı ve 160, 170 ve 180 °C giriş havası sıcaklığı                                                                   | Domateslerde likopen içeriğinin korunması için konvektif kurutma ve püskürtmeli kurutma koşullarını geliştirme                                                                | Montiel-Ventura vd. (2018)  |
| Ticari likopen                                                                  | Oktenil süksinatan hidrit (OSA) ile modifiye edilmiş nişasta Yağ fazı (orta zincirli triasilgliserol) | Nanoemülsiyon Ön karışım, 18.000 rpm'de 4 dakika boyunca homojenizasyon, sırasıyla 110 MPa sprej kurutma havası giriş ve çıkış sıcaklığı 190 °C, 85 °C, 20 mL/ dak besleme hızı | Emülgatör olarak biyopolimerik OSA-modifiye nişasta kullanarak likopen nanoemülsiyonlarını elde etme, fiziksel, termal özelliklerini değerlendirme                            | Rongli Li vd. (2018)        |

|                     |                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                    |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Domates konsantresi | Maltodekstrin, peyniraltı suyu proteini izolatu, modifiye nişasta                                                   | Püskürtmeyle kurutma 34 mL/ dak besleme akış hızı ;160°C ve 80°C giriş ve çıkış sıcaklıkları                                                                                                                    | Farklı kapsülleyici ajanların domates konsantresinin fizikokimyasal özellikler ve likopen stabilitesi üzerine etkisini belirleme                                                                                                                                                                                                      | Souza vd. (2018)   |
| Saf likopen         | Gliserol distearat, kaprilik / kaprik trigliserit (MCT yağı), gliserol monostearat, soya fosfatidil kolin, Tween 80 | Nanoemulsiyon 80°C-de, 20000 rpm'de ultra turaksla homojenizasyon; 225 sn boyunca % 25 güç çıkışında ultrason, dondurarak kurutma; sıvı azot ve sonra -30° C'de ve 0.100 mBar'da 24 saat boyunca liyofilizasyon | Nano yapıli lipid taşıyıcıya ve katı lipid nanoparçacıklarına yüksek kesimli homojenizasyon ve ultrason yöntemi kombinasyonu kullanılarak likopen tutturma, uygulanan lipid tiplerinin, nanotaşıyıcının (nanocarrier) tipinin ve likopen yüklenmesinin gelişmiş nanokariyerlerin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini inceleme | Zardini vd. (2018) |

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Güzyemişi meyveleri (*Elaeagnus umbellata* Thunb.), Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme bahçesinden hasat edilmiş, aynı olgunluktakiler çalışmaya dahil edilmiştir. Taze meyvelerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlendikten sonra likopen eldesine kadar -20 °C'de depolanmıştır.



Şekil 3.1. Güzyemişi meyvelerinin temin edilen yerin uydu görüntüsü.

**Kullanılan kimyasallar:** ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu), TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil) -1,3,5-triazin), DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), Trolox (6-hidroksi 2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit), 2,6-diklorofenolindofenol, Hidroklorik asit (% 37), Tetrahydrofuran, Metanol (% 99,8), Etanol, 3-propanol, Aseton, Maltodekstrin, Oksalik asit, kalsiyum klorür, Sodyum nitrit, Sodyum hidroksit ve (-) - epikateşin (Ep),  $\alpha$ - Amilaz (*Aspergillus oryzae*'den, 1.5U/mg), Lipaz (Tip2, 100-500 U/mg), ve Pepsin ( $\geq 250$ U/mg) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Potasyum klorür, Monopotasyum fosfat, Sodyum asetat, glasiyal asetik asit ve Askorbik asit (Asc.A) CARLO ERBA'dan alınmıştır. Gallik asit (G.A) ve Sodyum karbonat, Riedel-de Haen'den alınmıştır. Tween 80, Alüminyum klorür, Folin-Ciocalteu, Demir klorür, Sodyum klorür, amonyum nitrat, potasyum sitrat ve potasyum persülfat Merck'ten temin edilmiştir. Hekzan TEKKİM, Butilenmiş hidroksitoluen SAFC, üre İsolab, gam arabik ve musin Carl-Roth, safra sığır tozu ACROS Organics, Jelatin ve pektin, Dr. Gusto (Türkiye), Fındık yağı GÜRSOY'dan (Türkiye) satın alınmıştır.

### 3.1.1. Likopen Ekstraksiyonu ve Optimizasyonu

Likopen ekstraksiyonunun optimizasyonu iki aşamadan oluşmuştur. İlk aşamada, organik çözücülerin uygun karışımını bulmak için ekstraksiyon yapılmıştır. Daha sonra, en iyi çözücülerin karışımı kullanılarak, ekstraksiyon koşullarını optimize etmek için yeni faktörlerle ikinci ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1.1.1. Ekstraksiyon İçin Uygun Çözücü Karışımının Belirlenmesi

Likopen ekstraksiyon çözücülerini optimize etmek için, Mixture dizaynının Simplex lattice (simpleks kafes, SLD) tasarımı uygulanmıştır. Bu dizayn, çözücüler arasındaki interaksiyonları net olarak göstermekte en uygun (% 0 ile % 100 arasında) çözücü oranını seçme imkanı sağlayabilmektedir. Yanıt (likopen verimi) üzerine etkiyi belirlemek için, faktör olarak üç çözücü (X1= Hekzan, X2=Aseton ve X3= Metanol) kullanılmıştır. İlk aşamada, sıcaklık, süre ve pulp-çözücü oranı sırasıyla 20°C, 30 dakika, 1:40 olarak sabit tutulmuştur. Ön denmelere göre, düşük ekstraksiyon verimi ihtimaline karşı absölü veya sadece ikili solvent kullanımından kaçınılmıştır. Bu nedenle, üç değişken için % 0 ila % 100 yerine % 10 ila % 80 seviyelerinde tutulmuştur.

Tablo 3.1. Çözücü karışımının seçiminde kullanılan oranların kodlanmış ve gerçek değerleri.

|                   | Kodlanmış oran | Gerçek oran,% |
|-------------------|----------------|---------------|
| <b>X1:Hekzan</b>  | 0.1-0.8        | 10-80         |
| <b>X2:Aseton</b>  | 0.1-0.8        | 10-80         |
| <b>X3:Metanol</b> | 0.1-0.8        | 10-80         |

DeneySEL verilerden yararlanılarak yanıtların hesaplanmasında aşağıdaki polinomiyal denklem kullanılmıştır:

$$Y_i = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (3.1)$$

Formülde ;  $Y_i$  optimizasyonun yanıtını (likopen verimi mg / 100g),  $\beta_n$  sabit regresyon katsayıları,  $X_1$ ,  $X_2$  ve  $X_3$  hekzan, aseton ve metanol oranlarını göstermektedir.

### 3.1.1.2. Optimum Ekstraksiyon Koşullarının Belirlenmesi

Ekstraksiyon koşullarının (sıcaklık, pulp-çözücü oranı ve süre) optimizasyonu, bağımsız değişkenlerin likopen ekstraksiyon verimi üzerindeki ana etkilerini değerlendirmek için Box-Behnken Dizaynı (BBD) kullanılmıştır. Tablo 3.2'de verildiği gibi, üç değişken (X1= sıcaklık, X2= çözücü oranı ve X3= süre) kullanılmıştır.

Tablo 3.2. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan faktörler.

|                       | Kodlanmış seviyeler | Gerçek seviyeler |
|-----------------------|---------------------|------------------|
| X1:Sıcaklık,°C        | -1, 0, +1           | 20-60            |
| X2: Pulp:çözücü oranı | -1, 0, +1           | 1:10-1:70        |
| X3: Süre, dak         | -1, 0, +1           | 5-45             |

DeneySEL verilerden yararlanılarak yanıtların hesaplanmasında aşağıdaki polinomiyal denklem kullanılmıştır:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (3.2)$$

Formülde;  $Y_i$  optimizasyonun yanıtını (likopen verimi mg /100g),  $\beta_n$  sabit regresyon katsayılarını,  $X_1$ ,  $X_2$  ve  $X_3$  değişkenleri sırasıyla sıcaklık, pulp çözücü oranı ve ekstraksiyon süresini göstermektedir.

### 3.1.2. Likopenin Enkapsülasyonu

Optimum ekstraksiyon koşullarında (49 °C, 1:64, 25 dakika) likopen elde edilmiş, sonra ekstrakttaki çözücü döner buharlaştırıcıyla (BUCHI R-210, İsviçre) uzaklaştırılmıştır. Solventleri uzaklaştırılan likopen, fındık yağı içerisine alınmıştır. Likopen, yağda homojen çözününceye kadar karıştırılmıştır. Likopen içeren yağ, koyu renkli şişeye aktarılıp, ortama azot gazı verilip 4°C'de saklanmıştır. Enkapsülasyonda püskürtmeli kurutucu yanında liyofilizatör, etüv ve mikrodalga kurutma teknikleri de kullanılmıştır.

#### 3.1.2.1. Püskürterek Kurutma Yöntemiyle Likopen Tozu Üretimi

Bu teknikle enkapsülasyon, birkaç basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk olarak; kaplayıcı çözeltileri olan gam arabik ve maltodekstrin (% 20), saf suyla (50 °C, 400

rpm) çözündürölüp, 1 gece (12 saat) kendi halinde bekletilmiştir. Emülsiyon hazırlamak için, farklı solüsyonlara farklı miktarda likopen içeren yağ eklenmiştir. Likopen içeren yağ ilave edildikten sonra emülsiyon, Ultra-Turrax'da 10 000rpm, 5 dakika karıştırılıp, sprey kurutucuya (B-290, Büchi) verilmiştir. Emülsiyonun beslenmesi, işlem sırasında yağın ayrılmasının önlenmesi için, manyetik bir ısıtıcı (50 °C, 400 rpm) kullanılmıştır. Kurutma sırasında hava hızı (%30), aspiratör hızı (% 100) ve pompanın hızı da (% 5) sabit tutulmuştur.

### Enkapsülasyonun Optimizasyonu

Enkapsülasyon optimizasyonu, ön denemelerin sonuçlarına göre tasarlanmıştır. Likopen enkapsülasyonda işlemin etkinliğini optimize etmek için yanıt yüzey metodolojisi (RSM) ve Box-Behnken modeli kullanılmıştır. Tablo 3.3'de verildiği gibi, üç değişken (X1=kaplayıcı olarak Maltodekstrin ve/veya gam arabik, X2= Yağ diğer ifadeyle likopen içeriği, X3= kurutma sıcaklığı) kullanılmıştır. Seçilen deneme deseni, 3 merkez olmak üzere toplam 15 noktadan oluşmuştur. Saptanan deneysel verilerden yararlanılarak yanıtların hesaplanmasında aşağıdaki polinomiyal denklem kullanılmıştır :

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (3.3)$$

Formülde ; Y<sub>i</sub> optimizasyonun yanıtını (likopen verimi mg / 100g), β<sub>n</sub> sabit regresyon katsayılarını, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> ve X<sub>3</sub> değişkenleri sırasıyla kaplayıcı, yağ içeriği ve kurutma sıcaklığını ifade etmektedir.

Tablo 3.3. Püskürterek kurutmada kullanılan faktörler.

| Bağımsız değişkenler                                  | Kodlanmış seviyeler | Gerçek seviyeler |
|-------------------------------------------------------|---------------------|------------------|
| <b>X1:Maltodekstrin: gam arabik</b>                   | -1, 0, +1           | 0:100-100:0      |
| <b>X2:likopen içeren yağ miktarı,% (kuru maddede)</b> | -1, 0, +1           | 5-10             |
| <b>X3: Giriş sıcaklığı, °C</b>                        | -1, 0, +1           | 150-190          |

### 3.1.2.2. Koaservasyon Tekniği ile Enkapsülasyon

Koaservasyon, Silva vd. (2012b)'in bildirdiği yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Koaservat hazırlamak için üç polimer çözelti; jelatin (% 3), gam arabik (% 3), pektin (% 3) saf suda (50 °C, 400 rpm) ayrı ayrı hazırlanıp bir gece bekletilmiştir. Daha sonra, her bir karışım farklı oranlarda likopen içeren yağ ilave edilmiştir.

Jelatin çözeltisine yağ ilave edildikten sonra emülsiyon 10000 rpm'de 5 dakika Ultra-Turrax'da karıştırılmıştır. Isıtma ve karıştırma (50 °C, 400 rpm) birlikte yapılarak, ortama gam arabik ve/veya pektin çözeltileri eklenmiş 15 dakika daha karıştırmaya devam edilmiştir. Daha sonra, karışımın pH'ı 1M HCl ile 3.5'a ayarlanıp 30 dakika karıştırılmadan bekletilmiştir.

Emülsiyon 50 °C'de ve 400 rpm'de karıştırılarak 160 °C giriş sıcaklığı, % 30 hava hızında, % 100 aspirasyonda ve % 5 besleme oranında püskürtmeli kurutucu da kurutulmuştur.

### Koaservasyonda Optimum Noktanın Seçimi

Koaservasyon yöntemiyle en iyi noktayı seçebilmek için, farklı orandaki pektin-gam arabik karışımları hazırlanıp jelatin çözeltisine (% 3) ilave edilmiştir (Tablo 3.4). Likopen içeren yağ, bu çözeltilere toplam kuru maddede % 10, 30 ve 50 olacak şekilde 3 farklı miktarda eklenmiştir. Toplam 9 farklı koşulda analiz edilmiştir.

Tablo 3.4. Koaservasyonda kullanılan deneme deseni.

| Faktör                                       | Seviyeler, %      |
|----------------------------------------------|-------------------|
| A: Pektin/gam arabik karışım oranları        | 0:3, 1.5:1.5, 3:0 |
| B: Likopen içeren yağ miktarı (kuru maddede) | 10, 30, 50        |

\*toplam kuru madde %3, jelatin çözeltisi %3

### 3.1.2.3. Toz Üretiminde Diğer Kurutma Tekniklerinin Kullanımı

Püskürtmeli kurutma ve koaservasyon tekniğine ek olarak, bu yöntemlerde elde edilen optimum noktadaki değişkenler dikkate alınarak hazırlanan emülsiyonlarda liyofilizatör, mikrodalga ve etüv teknikleri de kullanılmış ve tüm teknikler enkapsülasyon etkinlikleri açısından karşılaştırılmıştır.

Liyofilizasyonda kurutmak için yaklaşık 40 g emülsiyon, petri kabına dökülüp 24 saat -80 °C'de dondurulmuştur. Daha sonra donmuş emülsiyonlar, liyofilizatöre (Labconco, Freezone 12 Plus, A.B.D) alınarak -86 ° C'de 0.0021 mbar 48 saat tutularak kurutulmuştur.

Etüvde kurutma için (NÜVE, FN 500P, Türkiye) hazırlanan emülsiyonlar pişirme kağıdı üzerine dökülerek (0.2-0.4 g/cm<sup>2</sup>) 50 °C'de sabit ağırlığa kadar tutulmuştur.

Mikrodalga ile kurutmada emülsiyonlar pişirme kağıdı üzerine (0.2-0.4 g/cm<sup>2</sup>) serilerek ev tipi bir mikrodalga fırında (Arçelik, MD581 Model, Türkiye) 750 Watt'ta kurutulmuştur.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Meyvelerde Yapılan Analizler**

##### **3.2.1.1. Meyvenin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi**

Taze meyvelerde ağırlık, renk, kuru madde gibi bazı fiziksel ve kimyasal analizler ile antioksidan ve aktivite analizleri yapılmıştır.

**Meyve Boyutlarının Tespiti:** Meyvelerin en ve boyları bir dijital kumpas (TRESNA, Seri: EC16, Çin) yardımıyla ölçülmüştür.

**Meyvenin Ağırlığı ve Çekirdek Oranı:** Meyve sayısı ve ortalama ağırlığını belirlemek için güzyemişinden belli miktar (50 g) tartılmış, kilogramdaki tane sayısı hesaplanmıştır. Çekirdek oranını belirlemek için, meyveler çekirdekleri ayrılmadan ve ayrıldıktan sonra tartılmıştır.

**Renk:** Meyvelerin rengi bir dijital renk ölçüm cihazı (Model CR-400, Minolta-Konica, Japonya) ile belirlenmiş ve L\*, a\*, b\* olarak ifade edilmiştir.

**Nem:** Taze meyveler, 70 °C'de kurutma fırınında (NÜVE, FN 500P, Türkiye) sabit ağırlık eldesine kadar bekletilmiştir. Ağırlıktaki değişimden gidilerek nem miktarı belirlenmiştir (AOAC, 2012).

**Toplam Çözünür Katı Madde (TSS):** Meyvelerin çözünür katı maddesi, Abbe refraktometresi (Model DTM-1, ATAGO, Japonya) ile analiz edilmiştir.

**pH:** Meyvelerin pH'sı pH-metre (Model Starter 3100, OHAUS, ABD) ile ölçülmüştür.

**Titrasyon Asitliği (T.A):** Titrasyon asitliği 0.1 M NaOH kullanılarak potansiyometrik olarak yapılmış, sonuçlar malik asit cinsinden (%) ifade edilmiştir (Sadler ve Murphy, 2010).

### **3.2.1.2. Biyoaktif Bileşikler ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Dondurulmuş meyveler, 1 gece buzdolabında bekletilerek çözündürülmüş, pulp haline getirildikten sonra %80 metanol çözeltisi ile 20 °C'de ultrason destekli su banyosunda (Wisd. Wise Clean, Kore) 30 dakika tutularak ekstrakte edilmiştir. Filtre edilen ekstraktta toplam fenolik madde, toplam flavonoid ve antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır.

**Toplam Fenolik Madde (TPC) Analizi:** TPC, Folin-Ciocalteu yöntemine (Singleton ve Rossi, 1965) göre spektrofotometrik (Agilent Technologies Spectrophotometer, Cary 60, Avustralya) olarak yapılmıştır. 0.15 ml ekstrakt, 0.75 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılıp 2 dakika çalkalandıktan sonra üzerine 0.6 mL sodyum karbonat çözeltisi (% 7.5) eklenmiş ve tekrar çalkalanıp 2 saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 760 nm dalga boyunda optik yoğunluğu belirlenmiştir. Saf gallik asit ile çizilen standart eğriden gidilerek mg gallik asit eşdeğeri/ 100g olarak toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

**Toplam Flavonoid (TF) Analizi:** TF içeriği, alüminyum klorit yöntemiyle spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Pekal ve Pyrzynska, 2014). Bunun için 1 ml ekstrakt, 0.3 ml sodyum nitritle (% 5, w /v) karıştırılıp 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 0.5 ml alüminyum klorür (% 2, w / v) ve 0.5 ml sodyum hidroksit çözeltisi (1M) eklenip 10 dakika daha bekletilmiştir. Optik yoğunluğu 510 nm'de saptanmıştır. Epikateşin ile çizilen standart eğriden gidilerek sonuçlar epikateşin mg eşdeğerleri cinsinden hesaplanmıştır.

**Demir Radikali Absorbsiyon Gücü (FRAP):** Meyve ekstraktlarının FRAP değeri (Benzie ve Strain, 1996) tarafından bildirilen yöntem ile belirlenmiştir. FRAP çözeltisi: TPTZ (10 mM), Fe CL<sub>3</sub> (40 mM HCl, 20 mM FeCl<sub>3</sub>) ve asetat tamponunun (sodyum asetat, glasiyal asetik asit) karıştırılmasıyla (1:1:10, V/V) hazırlanmıştır. 50 µL ekstrakt 950 µL FRAP çözeltisi ile karıştırılıp 5 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 593 nm dalga boyunda optik yoğunluğu belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda troloks çözeltileriyle hazırlanan standart eğriden gidilerek mmol/100g olarak sonuçlar bulunmuştur.

**DPPH Serbest Radikalini Giderme Etkisi:** Serbest radikal giderme etkisi (Brand-Williams vd., 1995)'e göre yapılmıştır. Bunun için 0.05 ml'lik ekstrakt üzerine 1 ml DPPH çözeltisi (6 µmol) eklenip oda sıcaklığında 2 saat karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometre 517 nm'de ile optik yoğunluğu (O.D.) belirlenmiştir. DPPH inhibisyon aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış ve troloks ile çizilen standart eğriden gidilerek sonuçlar mmol troloks eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir.

$$\% \text{ DPPH inhibisyon} = \frac{\text{Kontrol O.D} - \text{Numune O.D}}{\text{Kontrol O.D}} \times 100 \quad (3.4)$$

**ABTS Radikalini Giderme Etkisi:** ABTS radikalini giderme etkisi, Re vd. (1999) ve Kong ve Ismail (2011) modifiye edilerek ölçülmüştür. ABTS stok solüsyonu (7.4 mM) ve potasyum persülfat solüsyonunun (2.6 mM) 1:1 karışımı 12 saat karanlıkta bekletilip 734 nm'de optik yoğunluğu  $0.700 \pm 0.02$  olacak şekilde metanol ile seyreltilmiştir. ABTS çözeltinin 1.2 ml'si 0.1 ml ekstrakt ile karıştırılıp 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve 734 nm'de optik yoğunluğu tespit edilmiştir. Troloks ile çizilen standart eğriden gidilerek sonuçlar mmol troloks eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir.

**C Vitamini Tayini:** C vitamini, Benassi ve Antunes (1988) 'in bildirdiği yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Bunun için taze meyveler okzalik asitle (% 0.4) ekstrakte edilip süzölmüştür. Bu ekstrakttan 0.15 ml alınıp 1.35 ml 2,6-diklorofenolindofenol solüsyonu (% 0.01) ile karıştırılıp, hızla 520 nm'de optik yoğunluğu belirlenmiştir. Aynı işlem, okzalik asit ve değişik konsantrasyondaki askorbik asitle de tekrarlanmış, sonuçlar askorbik asit cinsinden ifade edilmiştir.

**Likopen Tayini:** Likopen miktarı, bazı modifikasyonlar yapılarak Fish vd. (2002)'e göre belirlenmiştir. Belli miktardaki meyveye % 0.05 BHT (asetonda hazırlanan) içeren karışım (hekzan, metanol ve aseton, 2:1:1) ilave edilmiş, oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika 200 rpm orbital çalkalayıcıda (ST 30, NÜVE. Türkiye) tutulmuştur. Daha sonra karışıma, 3 ml saf su ilave edilip 3 dakika daha çalkalanmıştır. Renkli kısmı ayırmak için, karışım 10 dakika dekantasyon için bırakılmıştır. Filtre edilerek renkli kısım ayrılmış, meyve pulunun tüm likopeni alınıncaya kadar ekstraksiyon işlemi 3-5 kez tekrar edilmiştir. Likopen içeren karışımlar birleştirilip karıştırılmış ve spektrofotometrede 502 nm'de optik yoğunluğu belirlenmiştir. Likopen içeriğini hesaplamada aşağıdaki denklem kullanılmıştır :

$$\text{Likopen } \left( \frac{mg}{100g \text{ TA}} \right) = \frac{A_{502}}{17.2 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}} \times \frac{1}{bcm} \times \frac{536,9g}{mol} \\ \times \frac{1l}{10^3 ml} \times \frac{10^3 mg}{100g} \times \frac{Hml}{kgmeyve} \times \frac{kg}{10^3 g} \quad (3.5)$$

$A_{502}$ , 502 nm'de ekstraktın optik yoğunluğu; b ışık yolu (1 cm); H, polar olmayan süpernatant hacmi

### 3.2.1.3. UV-Görünür Alan Spektrumunun Belirlenmesi

Bu analiz, meyveden optimum ekstraksiyon koşulları altında elde edilen likopen içeren ekstraktta yapılmıştır. UV-VIS spektrofotometrede ve 1 cm yollu kuvars küvete doldurulan likopen içeren çözeltinin optik yoğunluğu 300-600 nm aralığında taranmıştır. Elde edilen spektrum Calvo vd. (2017)'e göre analiz edilmiş ve likopen izomerini (all-trans izomeri) gösteren % III/II indeksi hesaplanmıştır.

### 3.2.1.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Analizi

Optimum ekstraksiyon koşulları altında elde edilen ekstraktın FTIR analizi, 4000 ile 600  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında FTIR Spektrometre (Perkin Elmer, Spectrum-Two, ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.1.5. Morfoloji Analizi

Morfoloji analizi, Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır. Bu analiz, optimum ekstraksiyondan önce ve sonra meyve dokusundaki değişimleri belirlemede kullanılmıştır. Tarama, Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde (KİTAM, Samsun, Türkiye), Altın/Paladyum bir kaplama uygulandıktan sonra Jeol JSM-7001F elektron mikroskobuyla (Jeol Ltd., Tokyo, Japan) yapılmıştır.

### 3.2.2. Emülsiyonlarda Yapılan Analizler

Koaservasyon tekniği kullanılan tozların üretimi sürecinde emülsiyonların pH ve elektriksel iletkenleri ile reolojik özellikleri incelenmiştir.

**pH ve Elektriksel iletkenlik ölçümü:** Emülsiyonların pH'sı, pH metre (Model Starter 3100, OHAUS, ABD); elektriksel iletkenlik özellikleri ise elektrokimyasal analizör (Consort, c6010) kullanılarak ölçülmüştür.

**Reolojik özelliklerin belirlenmesi:** Reolojik özellikleri belirlemek için Haake Mars Reometre (Thermofisher Scientific) ve P35Til paralel plakası ölçüm geometrisi olarak kullanılıp, 1 mm boşluk bırakılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı emülsiyonların reolojik özellikleri, 180 saniyeye kadar artan bir kayma hızında ( $0.1-100 \text{ s}^{-1}$ )  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de incelenmiştir. Viskozite ve akış eğrileri çıkarılmıştır. Görünür viskozite ( $\text{mPa.s}$ ), yaklaşık  $51$  ve  $100 \text{ s}^{-1}$  kayma hızı arasındaki tüm viskozitelerin ortalaması olarak hesaplanmıştır. Akış eğrileri, Power-Law modeline (en yüksek  $R^2$  değerine göre) uyum göstermiştir. Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmıştır.

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (3.6)$$

Formülde ;  $\sigma$ , kayma gerilimi ( $\text{mPa}$ );  $K$  kıvam indeksi ( $\text{mPa.s}^n$ );  $\dot{\gamma}$  kayma hızı ( $\text{s}^{-1}$ );  $n$ , akış davranış indeksini (boyutsuz) ifade etmektedir.

Emülsiyonların viskozitelerinin sıcaklığa bağımlılığını değerlendirmek (Sengül vd., 2005) için,  $10-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  arasındaki sıcaklık artışının etkisi Arrhenius denklemine (denklem 3.7 ) uyarlanmıştır;

$$K = K_t \dot{\gamma}^{E_a/RT} \quad (3.7)$$

Formülde ;  $K$  kıvam indeksini ( $\text{mPa.sn}$ );  $K_t$  referans sıcaklıkta kıvam indeksini ( $\text{mPa.s}^n$ );  $E_a$  aktivasyon enerjisini ( $\text{J/mol}$ );  $R$  universal gaz sabiti ( $\text{J/mol.K}$ );  $T$  mutlak sıcaklığı ( $\text{K}$ ) ifade etmektedir.

### 3.2.3. Kapsüllenmiş Tozlarda Yapılan Analizler

Tozlarda fiziksel, kimyasal ve antioksidan aktivite yanında morfolojik ve termal özellikleri belirlemeye yönelik analizler de yapılmıştır.

#### 3.2.3.1. Fiziksel, Kimyasal ve Antioksidan Aktivite Analizleri

##### Renk Analizi

Tozların rengi dijital renk cihazıyla ölçülmüş, sonuçlar,  $L^*$  (açıklık-koyuluk),  $a^*$  (kırmızılık-yeşillik) ve  $b^*$  (sarılık-mavilik) olarak ifade edilmiştir. Bu analiz, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır. Kroma ( $C^*$ ), hue açısı ( $H^*$ ) ve renkteki değişme ( $\Delta E$ ) aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplanmıştır:

$$Kroma = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.8)$$

$$Hue \text{ açısı} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3.9)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (3.10)$$

Formülde ; L \*, a \*, b \* likopen içeren kurutulmuş örneğe ait değerleri ; L<sub>0</sub>\*, a<sub>0</sub>\*, b<sub>0</sub>\* likopen içermeyen kurutulmuş örneğe ait değerleri ifade etmektedir.

### Nem ve Su Aktivitesi Analizleri

Tozların su içeriği, 70 °C'de sabit ağırlığa ulaşana kadar kurutmak yoluyla belirlenmiştir. Su aktivitesi ise, 25 °C'de su aktivitesi ölçüm cihazıyla (Aqualab Dewpoint Water Activity Meter 4TE, ABD) saptanmıştır.

### Çözünürlük Analizi

Çözünürlük analizi, Karrar vd. (2021)'in bildirdikleri yöntemle yapılmıştır. 0.5 g toz tartılmış ve 50 mL su içeren tüpe eklenmiştir. Çözelti homojen oluncaya karıştırılıp santrifüjlenmiş (3000 rpm'de 5 dakika), üst kısımdan 10 mL alınmış 70 °C'de 24 saat kurutulup aşağıdaki formülle % çözünürlük hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Çözünürlük} = \frac{\text{üst fazın kuru maddesi(g)}}{\text{numune ağırlığı (0.5g)}} \times 100 \quad (3.11)$$

### Yoğunluk Tayini

Tozların yoğunluğunu belirlemede, ağırlık/hacim oranı (g/cm<sup>3</sup>) kullanılmıştır. Yığın yoğunluğu (ρ<sub>b</sub>) analizi için, toz numunesi hava boşluğu kalmayacak şekilde, ancak herhangi bir basınç uygulanmadan yani sıkıştırılmadan bir ölçü silindire dökülüp, tartılmış ve hacmi ölçülüp yığın yoğunluğu hesaplanmıştır. Daha sonra, 50 kez hafifçe vurularak sıkıştırılmış, hacmi tekrar okunup sıkıştırılmış yoğunluk (ρ<sub>t</sub>) değeri tespit edilmiştir. Bu iki yoğunluk yardımıyla tozların akışkanlık özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan Carr indeksi (

Tablo 3.5) değeri hesaplanmıştır (Turchiuli vd., 2005):

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

Tablo 3.5. Carr indeksine göre tozların akışkanlık özellikleri.

| Carr indeksi | Akışkanlık          |
|--------------|---------------------|
| 0.05 - 0.15  | Çok iyi             |
| 0.15 - 0.18  | İyi                 |
| 0.18 - 0.22  | Orta                |
| 0.22 - 0.35  | Kötü                |
| 0.35 - 0.40  | Çok kötü            |
| >0.40        | Aşırı derecede kötü |

### Toz veriminin Belirlenmesi

Toz verimi, elde edilen toz ağırlığı ile teorik olarak hesaplanan toz ağırlığının oranıdır. Basitçe şu şekilde formülize edilebilir :

$$\% \text{Toz verimi} = \frac{\text{elde edilen toz ağırlığı}}{\text{yağ ve kaplayıcıların ağırlıkları}} \times 100 \quad (3.13)$$

### Enkapsülasyon Yeterliliği

Enkapsülasyon yeterliliği belirlenmesinde Gheonea vd. (2021) bildirdikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun belirlenebilmesi için tozlarda toplam ve yüzey likopen miktarları tespit edilmiştir.

**Toplam Likopen İçeriği (Lt):** Yaklaşık 1 g toz tartılmış ve 15 ml NaCl (% 10): metanol (1:1) içinde çözülmüştür. Multirotator (BioSan, Multi Bio RS-24) ile 20-30 dakika karıştırıldıktan sonra kapsüllerin tam açılması için ultrasonik banyoda 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 10 mL hekzan: aseton (1:1) karışımı ilave edilerek multirotator ve ultrasonik banyoda 10-15 dakika tutulmuştur. Sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip 502 nm spektrofotometrede optik yoğunluğu okunmuştur.

**Yüzey Likopeni (Ly):** Yaklaşık 1 g toz tartılmış ve 10 mL hekzan: aseton (1:1) karışımı eklenmiştir. 1-2 dakika vortekslenildikten sonra 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant ayrılmıştır. Bu kısmın üzerine 4 mL saf su:metanol (1:1) karışımı eklenmiş vortekslenmiş ve 5-10 dakika kendi halinde bekletilip renkli faz ayrılıp 502 nm dalga boyunda optik yoğunluğu okunmuştur. Enkapsülasyon yeterliliğinin (%EE) hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\%EE = \frac{Lt - Ly}{L t} \quad (3.14)$$

### Higroskobisite

Higroskopluk analizi, Souza vd. (2018)'e göre, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır. Bunun için 0.5 g toz, küçük cam kaplara tartılmış ve doymuş NaCl çözeltisi (% 75 bağıl nem) içeren bir desikatöre yerleştirilmiştir. Sıcaklığı 25 °C'de sabit tutmak için bir inkübatörden yararlanılmıştır. Depolama süresince belli periyotlarda ağırlıktaki artış kaydedilmiş ve aşağıdaki formül yardımıyla higroskopluk hesaplanmıştır:

$$M(g/100g) = \frac{Wt - Wi}{Wi} \times 100 \quad (3.15)$$

Formülde ;  $M$ , belirli süredeki nem içeriğini (g su/100 g kuru tozda);  $W_i$  başlangıç ağırlığını;  $W_t$  belirli süredeki ağırlığı ifade etmektedir.

Nem absorpsiyon kinetiğini modellemek için Peleg denklemi (3.16) ve Weibull denklemi (3.18) uygulanmıştır.

$$M = M_0 + \frac{t}{a + b t} \quad (3.16)$$

Formülde ;  $M_0$ ,  $t = 0$ 'da (g su /100 g kuru tozda) nem içeriğini;  $M$ , belirli süredeki nem içeriğini (g su / 100 g kuru toz);  $t$ , absorpsiyon süresini;  $(h)$ ,  $a$  ve  $b$  sırasıyla modelin kinetik sabitini ve karakteristik sabitini ifade etmektedir.

$$M = M_e + (M_0 - M_e) \left[ -\left(\frac{t}{b}\right)^a \right] \quad (3.17)$$

Formülde ;  $M_e$ , denge nem içeriğini (g su /100 g kuru tozda);  $a$  ve  $b$  şekil ve ölçek parametrelerini ifade etmektedir.

### Partikül Boyutunun Belirlenmesi

Malvern Mastersizer 3000 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, İngiltere) cihazı, numunelerin partikül boyutunu ve boyut dağılımını belirlemek için kullanılmıştır. Analiz KİTAM 'da yapılmıştır. Bu analiz, enkapsülasyon ve koaservasyon optimum koşullarda hazırlanan emülsiyonlarına ve farklı kurutma yöntemleriyle üretilen tozlarda sıvı dispersiyon yöntem ile yapılmıştır. Partikül boyutu

ölçümü her bir numune için 3 kez tekrarlanmıştır. Ölçüm sonuçları, hacimsel dağılım değerlerini göstermektedir.

### **Tozlarda Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Numunelerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için hekzanla çözülen tozlarda, meyvelerde yapıldığı (bölüm 3.2.1.2) gibi ABTS ve DPPH serbest radikal giderme etkileri analizleri yapılmış ve sonuçlar mMol troloks eşdeğeri/ g olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.3.2. Termal Özelliklerin Belirlenmesi**

Tozların termal davranışlarını incelemek için differansiyel tarama kalorimetrisi (Perkin-Elmer, DSC 4000, Waltham, ABD) kullanılmıştır. Bunun için yaklaşık 3 mg numune, alüminyum kaplara tartılıp hava geçirmez şekilde kapatılmıştır. Kontrol olarak boş kap kullanılmıştır. Çalışmada, 20 mL/dak akış hızında nitrojen gazı kullanılmış, sıcaklık aralığı olarak 20- 400 °C (10 °C/dak artış hızıyla) seçilmiştir. Bu analiz, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır.

### **3.2.3.3. Fourier Transform İnfrared (FTIR) Analizi**

Toz ve kaplayıcılarda FTIR analizi, FTIR Spektrometre (Perkin Elmer, Spectrum-Two, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analiz, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır.

### **3.2.3.4. Mikroskopik Özelliklerin Belirlenmesi**

Emülsiyon görüntülerini incelemek için, ışık mikroskobu (Olympus, C×22) kullanılmıştır. Örnekler, bir cam lam ve lamel arasına konulup ×100 büyütme olarak incelenmiştir.

Kapsüllenmiş tozların morfolojisini araştırmak için taramalı elektron mikroskop (SEM) kullanılmıştır. Tarama, KİTAM araştırma merkezinde Jeol JSM-7001F kullanılarak yapılmıştır. Bu analiz, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır.

### **3.2.3.5. X-Işını Kırınım (XRD) Analizi**

Kapsüllenmiş tozlar ve kaplayıcıların X-ışınım kırınımı (Rigaku, smartlab) KİTAM araştırma merkezinde yapılmıştır. 3.75 °/dak hızla, 5 ° ile 50 ° (2-teta)

arasında tarama açısında, Cu-K $\beta$  radyasyon filtreli sürekli tarama modu, 40 kV elektrik gerilimi ve 30 mA elektrik akımında yapılmıştır. Bu analiz, sadece farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozlarda yapılmıştır.

### 3.2.3.6. Stabilite Testleri

Solventlerle ekstrakte edildikten sonra yağ içerisine alınan likopen ile farklı enkapsülasyon teknik ve kurutmayla optimum koşullarda üretilen tozların likopen stabiliteyi termal ve depolama açısından karşılaştırılmıştır.

### Likopenin Termal Stabilite Ve Degradasyon Kinetiğinin Belirlenmesi

Likopenin stabilitesi, likopen içeren fındık yağının 4 farklı sıcaklıkta (30, 50, 70, 90 °C) ve kapsüllenmiş tozları 3 farklı sıcaklıkta (50,70, 90°C) tutularak belirlenmiştir. Numuneler azot gazı olan ortamda analiz edilmiştir. Likopen içeriği, düzenli aralıklarda (4, 8, 12, 36, 48 saat) alınan örneklerde belirlenmiştir.

### Depolama Stabilite ve Degradasyon Kinetiği

Depolama sırasında termal stabiliteyi değerlendirmek için, likopen tozları 4 ve 25 ° C'de depolanmıştır. Farklı aralıklarda (0, 15, 30, 60 ve 90 gün) örnek alınarak likopen içeriği tespit edilmiştir.

Likopen degradasyonun 1.dereceden kinetik modeline uygun tavır göstermiş ve şu formülle hesaplanmıştır:

$$\ln(C/C_0) = -k \cdot t \quad (3.18)$$

Formülde ; C<sub>0</sub>, başlangıç likopen içeriğini (t = 0); C, t süredeki likopen içeriğini; t = süre (saat) / (gün); k, degradasyon hızı sabitini (saat<sup>-1</sup>) / (gün<sup>-1</sup>) ifade etmektedir.

Kapsüllenmiş likopenin yarı ömrü değişik sıcaklıklar altında (t<sub>1/2</sub>), aşağıdaki denklem (3.20) ile degradasyon hızı sabitinden yararlanılarak hesaplanmıştır:

$$t_{1/2} = -\ln 0.5 / k \quad (3.19)$$

Aktivasyon enerjisi (E<sub>a</sub>), Arrhenius denkleminde (denklem 3.20) giderek belirlenmiştir:

$$k = k_0 e^{-E_a/RT} \quad (3.20)$$

Formülde; k, degradasyon hız sabitini (saat<sup>-1</sup>) / (gün<sup>-1</sup>); k<sub>0</sub>, frekans faktörü (h<sup>-1</sup>) / (gün<sup>-1</sup>); E<sub>a</sub>, aktivasyon enerjisini (kJ/mol); R, üniversal gaz sabitini (8.314 J / mol. K); T, mutlak sıcaklığı (K) ifade etmektedir.

### Degradasyonun Termodinamiği

Gibbs serbest enerjisi (ΔG), entalpi (ΔH) ve aktivasyon entropisi (ΔS) gibi likopen degradasyonunun termodinamik parametreleri degradasyon hız sabiti (h<sup>-1</sup>) / (gün<sup>-1</sup>) ve aktivasyon enerjisi (E<sub>a</sub>) kullanılarak Ariahu vd. (2021)' a göre hesaplanmıştır.

$$\Delta G = -R \times T \times \ln \left( \frac{k \times h_p}{K_B \times T} \right) \quad (3.21)$$

$$\Delta h = E_a - (R \times T) \quad (3.22)$$

$$\Delta S = \left( \frac{\Delta h - \Delta G}{T} \right) \quad (3.23)$$

Formülde ; h<sub>p</sub> Planck sabiti (6.62 × 10<sup>-34</sup> Js) ve K<sub>B</sub> Bolzman sabitini (1.38 × 10<sup>-23</sup>J / K) ifade etmektedir.

### 3.2.3.7. Biyoyararlılık Testi

Likopenin biyoyararlılığı, insan gastrointestinal sistemini simüle ederek *in vitro* olarak incelenmiştir. Ağız, mide ve bağırsak sindiriminin simülasyon protokolü, önceki çalışmaların (Goñi vd., 2006; Jain vd., 2020; Liang vd., 2021; Mao ve McClements, 2012; Zhao vd., 2020) modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Likopen biyoyararlılığı, nanoemülsiyon (likopenle zenginleştirilmiş fındık yağı : Tween 80 çözeltisi) ile üretilen tüm likopen tozlarında (4 kurutma tekniğinde) gerçekleştirilmiştir.

**Numunelerin Hazırlanması:** Yağ, Tween 80 çözeltisi (% 0.05) içinde Ultra-Turrax (10000 rpm, 10 dakika) kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Tozlar ise deiyonize su (0.5:20-1:20, w:v) ile Multirotator (10-15 dakika) yardımıyla oda sıcaklığında karıştırılıp homojen hale getirilmiştir.

**Oral Faz (ağızda):** Eşit hacimde numune solüsyonu ile yapay salya (Sodyum klorür 1.594 g/l, amonyum nitrat 0,328 g/l, potasyum fosfat 0.636 g/l, potasyum klorür

0.202 g/l, potasyum sitrat 0.308 g/l, üre 0.198 g/l, müsin 30g/l,  $\alpha$ -amilaz 2 g/l, pH 6.8) karıştırılmış ve karışımın 1M NaOH ile pH'ı 6.8'e ayarlanıp 37°C'de sürekli çalkalanarak (200 rpm) 15 dakika inkübe edilmiştir.

**Gastrik Faz (midede):** Eşit hacimde oral faz sindiriminden alınan numunelerle simüle edilmiş mide sıvısı (sodyum klorür 2 g/L, hidroklorik asit 7ml/L, pepsin 3.2 g/L) karıştırılıp 1M HCl ile pH'ı 2.5 'e ayarlanmış ve 37°C'de sürekli çalkalanarak (200 rpm) 2 saat inkübe edilmiştir.

**İnce Bağırsak Fazı:** Gastrik fazından elde edilen numunelerin 1M NaOH ile pH'ı 7'e ayarlanmış ve sürekli karıştırılarak 4 ml safra tuzu çözeltisi (5g/L) ve 1 ml kalsiyum klorür çözeltisi (0.75 M) ilave edilmiştir. Daha sonra karışımın pH'sı tekrar 7'ye ayarlanmıştır. Ortama 2.5 ml lipaz solüsyonu (4.8 g/L) eklenip, 2 saat boyunca çalkalanarak (200 rpm) 37°C'de inkübe edilmiştir. NaOH çözeltisi (0.25M) eklenerek pH 7'de sabit tutulmuştur.

#### **Biyoyararlılık ve Likopen Tayini**

Bağırsak sindiriminden sonra elde edilen karışım, 4°C'de 40 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Likopen içeren miseli temsil eden süpernatant toplanmış ve 10 mL metanol: hekzan (v:v) ile karıştırılmıştır. 4°C'de 100 dakika boyunca 4000 rpm'de tekrar santrifüjlenmiştir. Elde edilen polar olmayan süpernatant alınmış ve likopen içeriği 502 nm'de belirlenmiştir. Likopenin biyoyararlılığı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{Biyoyararlılık} = \frac{C_{\text{misel}}}{C_0} \quad (3.24)$$

Formülde,  $C_{\text{misel}}$ , misel fraksiyonundaki likopen (mg/g);  $C_0$ , likopenle zenginleştirilmiş yağda veya tozlardaki likopen (mg/g) konsantrasyonlarını göstermektedir.

#### **3.2.4. İstatistiksel Analiz**

Likopenin ekstraksiyonu ve püskürterek kurutulmasında; modellerin oluşturulması ve optimum koşullar ile konturların belirlenmesinde Design-Expert 10 (Stat-Ease, ABD) kullanılmıştır. Modelin istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0.05$ ) olup olmadığının belirlenmesinde, her yanıt için varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır.

Modellerin yeterliliği; regrasyon katsayısı ( $R^2$ ), düzeltilmiş regrasyon katsayısı (Düz.  $R^2$ ), tahmini hata kareler toplamı (PRESS) ve uyumsuzluk değeri açısından kontrol edilmiştir. Optimum koşullar, likopen verimi (ekstraksiyon için), enkapsülasyon yeterliliği (enkapsülasyon için) maksimize edilerek ve bağımsız değışkenler aralıkta tutularak istenilirlik fonksiyonuna göre hesaplanmıştır.

Koaservasyonla toz eldesinde, farklı kaplayıcı ve likopen içeren yağ ilavesiyle oluşturulan denemede elde edilen sonuçlarla tüm kaplama tekniklerinin karşılaştırılmasında SPSS paket programmi (IBM, sürüm 21) kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık ( $p < 0.05$ ),  $\alpha = \%95$  ile Duncan testi kullanılarak varyans tek yönlü ANOVA analizi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde öncelikle materyalin özellikleri literatür eşliğinde incelenmiş, sonra likopen ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu ve farklı tekniklerle enkapsülasyonu tartışılmıştır.

### 4.1. Güzyemişi Meyvelerinin Fiziksel, Kimyasal ve Antioksidan Özellikleri

Dünyanın birçok yerinde doğal yayılım gösteren güzyemişi meyveleri yetiştiği yer ve iklime göre farklı bileşimlere sahiptir. Bu çalışmada kullanılan meyvelerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Güzyemişi meyvelerinin bazı fiziksel, kimyasal ve antioksidan özellikleri.

| Özellik                                      | Ortalama $\pm$ std.sapma |
|----------------------------------------------|--------------------------|
| Meyve ağırlığı, g                            | 0.191 $\pm$ 0.009        |
| Kilogramdaki meyve sayısı                    | 5243.4 $\pm$ 256.2       |
| En, mm                                       | 6.39 $\pm$ 0.59          |
| Boy, mm                                      | 6.54 $\pm$ 0.65          |
| Meyve:çekirdek oranı, %                      | 12.06 $\pm$ 1.17         |
| L*, bütün meyve                              | 27.90 $\pm$ 0.84         |
| a*                                           | 16.49 $\pm$ 1.48         |
| b*                                           | 13.72 $\pm$ 0.83         |
| L*, pulp                                     | 46.61 $\pm$ 2.48         |
| a*                                           | 34.52 $\pm$ 1.65         |
| b*                                           | 25.05 $\pm$ 0.80         |
| Nem, %                                       | 79.26 $\pm$ 0.40         |
| Çözünür katı madde, %                        | 15.90 $\pm$ 0.76         |
| pH                                           | 3.03 $\pm$ 0.02          |
| Titrasyon asitliği, % (malik asit cinsinden) | 2.57 $\pm$ 0.04          |
| TPC, mg GAE/100g                             | 1052.48 $\pm$ 54.19      |
| TF, mg (-) Ep E/100g                         | 30.56 $\pm$ 2.29         |
| C vitamini, mg/100g                          | 8.58 $\pm$ 0.99          |
| Likopen, mg/100g                             | 26.66 $\pm$ 2.33         |
| ABTS, mM TE/100g                             | 765.49 $\pm$ 54.91       |
| DPPH, mM TE/100g                             | 546.30 $\pm$ 32.72       |
| FRAP, mM TE/100g                             | 647.92 $\pm$ 27.34       |

Analizi yapılan güz yemişi meyveleri küçük olup kilogramdaki tane sayısı ortalama olarak 5243 adet olarak bulunmuştur. Bu sonuç, sırasıyla 100 adet güzyemişi

meyvesinin ağırlığını 17.54-18.40 g ve 16.41–22.80 g olarak saptayan Ahmad vd. (2006) ve Hussain (2011) 'in bulgularına yakındır. Çekirdek ağırlığı, taze meyvenin toplam ağırlığının % 12.06'ını kapladığı, en ve boy değerlerinin ortalama 6.39 ve 6.54 mm olduğu belirlenmiş olup meyve boyutlarının Ahmad vd. (2006) ve Ghellam vd. (2021)'in bulgularına (4.28 ve 8.7 mm, 6.40 ve 6.19 mm) yakın olduğu görülmüştür.

Meyvelerin pigmentasyonunu gösteren ve olgunlaşma ile değişime uğrayan renk CIE L \* a \* b \* sistemi ile belirlenmiştir. Likopenin önemli kaynağı olan güzyemişi meyveleri kırmızı renge sahiptir. Tüm meyve dış yüzeyi düşük bir aydınlık ( $L^*=27.90$ ), buna karşın yüksek kırmızılık ( $a^*=16.49$ ) ve sarılık ( $b^*=13.72$ ) değeri göstermiştir. Renk koordinatları, likopen içeren ve kırmızı renge sahip olan birçok taze domates çeşidine yakındır (Bilbao-Sainz vd., 2021; Opara vd., 2012). Pulpa ait renk değerleri incelendiğinde, meyveye göre yaklaşık iki kat artmıştır. Bu artış, hücrelerin parçalanması sonucunda pigment salınımı ile ilgili olabilir.

Güzyemişi meyvesi fenolik bileşikler ve likopence zengin olup yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Tablo 4.1). Meyvelerin toplam fenolik madde ve flavonoid miktarı sırasıyla 1052.48 mg G.A Eq/ 100 g ve 30.56 mg - (-) Ep Eq / 100 g olarak saptanmıştır. Yüksek antioksidan aktivite, fenolik bileşikler, karotenoidler, vitaminler ve diğer biyoaktif bileşiklere atf edilebilir. Toplam fenolik maddeyi, Black vd. (2005) 139.9 ve 183.3 mg/100g; Ishaq vd. (2015) 1630 ve 2000 mg/100g arasında saptamışlardır. Bizim sonuçlar bildirilenlere yakın bulunmuştur. Doğal antioksidan bileşikler ile antiradikal ve antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Khattak, 2012; Rababah vd., 2010).

## **4.2. Likopen Ekstraksiyon ve Optimizasyonu**

Güzyemişi meyvelerinden en yüksek likopen verimini elde etmek için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. 1. basamakta, çözücü seçimi; 2. basamakta ise, ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

### **4.2.1. Solvent Karışımının Belirlenmesi ve Optimizasyonu**

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, likopen ekstraksiyonunda tek çözücü yerine üçlü karışımın (hekzan, aseton ve alkol) daha etkili olduğu bildirilmiştir (Periago vd., 2004; Zuorro, 2020). Bu nedenle, çalışmada üç çözücü için uygun

karışımı belirlemede Simpleks-kafes tasarım (SLD) modeli kullanılmıştır. Modelde, 0.1 ile 0.8 değişken düzeyleri uygulanmış ve 14 nokta denenmiştir (Tablo 4.2).

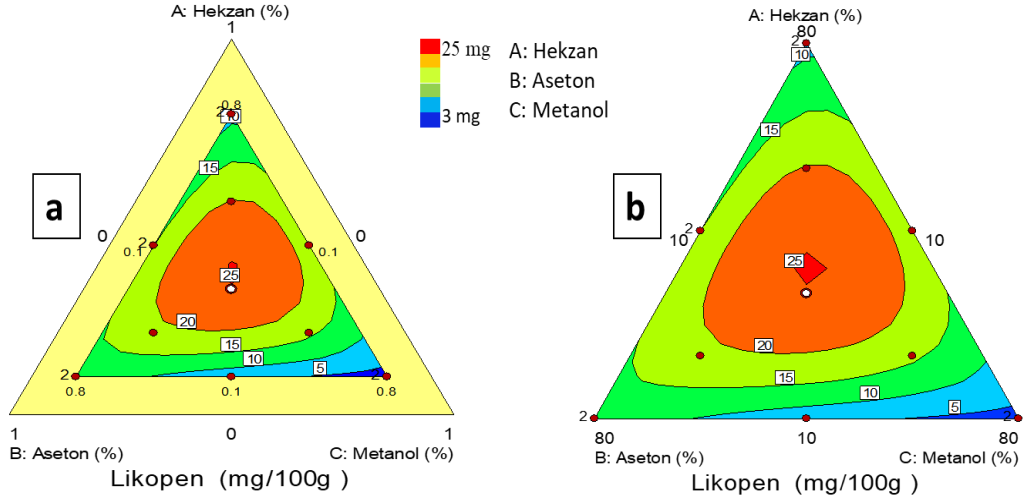
Tablo 4.2. Kodlanmış ve gerçek değişkenler ile likopen miktar ve verimi.

|    | Kodlanmış değişkenler |         |         | Gerçek değişkenler (%) |       |       | Yanıtlar         |                        |
|----|-----------------------|---------|---------|------------------------|-------|-------|------------------|------------------------|
|    | $X_1$ :               | $X_2$ : | $X_3$ : | X1:                    | X2:   | X3:   | Likopen, mg/100g | Ekstraksiyon Verimi, % |
| 1  | 0.100                 | 0.800   | 0.100   | 10.00                  | 80.00 | 10.00 | 16.18            | 60.71                  |
| 2  | 0.450                 | 0.450   | 0.100   | 45.00                  | 45.00 | 10.00 | 15.34            | 57.54                  |
| 3  | 0.100                 | 0.100   | 0.800   | 10.00                  | 10.00 | 80.00 | 3.18             | 11.94                  |
| 4  | 0.800                 | 0.100   | 0.100   | 80.00                  | 10.00 | 10.00 | 10.02            | 37.59                  |
| 5  | 0.217                 | 0.567   | 0.217   | 21.67                  | 56.67 | 21.67 | 16.93            | 63.52                  |
| 6  | 0.100                 | 0.450   | 0.450   | 10.00                  | 45.00 | 45.00 | 7.45             | 27.95                  |
| 7  | 0.450                 | 0.450   | 0.100   | 45.00                  | 45.00 | 10.00 | 14.66            | 55.01                  |
| 8  | 0.217                 | 0.217   | 0.567   | 21.67                  | 21.67 | 56.67 | 15.92            | 59.72                  |
| 9  | 0.333                 | 0.333   | 0.333   | 33.33                  | 33.33 | 33.33 | 24.50            | 91.90                  |
| 10 | 0.100                 | 0.800   | 0.100   | 10.00                  | 80.00 | 10.00 | 10.99            | 41.23                  |
| 11 | 0.100                 | 0.100   | 0.800   | 10.00                  | 10.00 | 80.00 | 3.92             | 14.71                  |
| 12 | 0.567                 | 0.217   | 0.217   | 56.67                  | 21.67 | 21.67 | 22.24            | 83.44                  |
| 13 | 0.450                 | 0.100   | 0.450   | 45.00                  | 10.00 | 45.00 | 16.52            | 61.97                  |
| 14 | 0.800                 | 0.100   | 0.100   | 80.00                  | 10.00 | 10.00 | 6.97             | 26.14                  |

Kodlanmış değişkenler ( $X_1$ = Hekzan,  $X_2$ = Aseton,  $X_3$ =Metanol, 0.1-0.8), Gerçek değişkenler ( $X_1$ = Hekzan,  $X_2$ = Aseton,  $X_3$ = Metanol, %10-80)

Tablodan da görüldüğü gibi, çözücü çeşit ve oranına bağlı olarak ekstraksiyon verimi çok değişkenlik göstermiştir. Likopen miktarı 3.18 (% 11.94) ile 24.50 mg/100g (% 91.90) arasında değişmiştir. En düşük verim, en yüksek metanol içeren karışımda (hekzan aseton : metanol ; 0.10: 0.10: 0.80), en yüksek verim ise üç çözücünün eşit oranda (hekzan:aseton:metanol; 0.33, 0.33, 0.33) karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Bu durumu, Şekil 4.1'ten de daha net görmek mümkündür. Karışımlar üçgenin köşelerinden uzaklaştıkça, ekstraksiyon verimliliği yükseldiği görülmektedir.

Şekil 4.1 a ve b, ekstrakte edilmiş likopenin miktarını göstermektedir. Şekil 4.1 a gerçek optimizasyonun üçgenini ( $0 \leq X_i \leq 1$ , gerçek noktalar) temsil ederken, Şekil 4.1 b sadece limit değişkenleri ( $0.1 \leq X_i \leq 0.8$ ) göstermektedir.



Şekil 4.1. Kodlanmış değişkenlerin (0 ve 1 arasında) (a), gerçek değişkenlerin (%10 ve 80% arasında) (b) bir fonksiyonu olarak likopen miktarı.

Varyans analiz (ANOVA) sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir. Sonuçlara göre, ekstrakte edilebilen likopen miktarının özel kübik model ile uyumlu olduğu görülmüştür. Modelin p değeri önemli ( $p = 0.0003$ ), uygunsuzluk değeri önemsiz ( $p = 0.7004$ ), regresyon katsayıları ise yüksek belirlenmiştir. Regresyon katsayısı ( $R^2 = 0.9516$ ) ve düzeltilmiş regrasyon katsayısı (Düzeltilmiş  $R^2 = 0.9102$ ) yüksek ve birbirine yakın bulunmuştur. Bu da likopen miktarları için tahmin edilen değerlerin deneysel verilere çok yakın olduğunu göstermektedir. Modelin uyumluluğu, en düşük PRESS (Tahmini hata kareler toplamı) değeri ile de doğrulanmıştır. Sonuç olarak, bu model deneysel verileri yeterince temsil etmiştir.

Tablo 4.3. Likopen ekstraksiyonunun karışım optimizasyonu için için istatistik sonuçları ( $p < 0.05$ ).

| Kaynak     | Uyumsuzluğun testleri |      |       |          |           | Model performans değerleri |        |            |        |
|------------|-----------------------|------|-------|----------|-----------|----------------------------|--------|------------|--------|
|            | K. T                  | S. D | K. O  | F Değeri | p- Değeri | p- Değeri                  | $R^2$  | Düz- $R^2$ | PRESS  |
| Lineer     | 417.47                | 7    | 59.64 | 12.80    | 0.0134    | -                          | 0.1781 | 0.0287     | 698.53 |
| Kuadratik  | 90.07                 | 4    | 22.52 | 4.83     | 0.0781    | -                          | 0.7951 | 0.6671     | 603.77 |
| Özel kübik | 7.03                  | 3    | 2.34  | 0.50     | 0.7004    | 0.0003                     | 0.9516 | 0.9102     | 175.65 |

Tablo 4.4. Çözücü karışımının bir fonksiyonu olarak likopen için özel kübik ANOVA sonuçları.

| Kaynak                  | K.T           | S.D       | K.O   | F Değeri | p- Değeri |
|-------------------------|---------------|-----------|-------|----------|-----------|
| <b>Model</b>            | 504.96        | 6         | 84.16 | 22.95    | 0.0003    |
| <b>Doğrusal karışım</b> | 94.52         | 2         | 47.26 | 12.89    | 0.0045    |
| <b>X1* X2</b>           | 21.35         | 1         | 21.35 | 5.82     | 0.0466    |
| <b>X1* X3</b>           | 99.81         | 1         | 99.81 | 27.22    | 0.0012    |
| <b>X2* X3</b>           | 1.90          | 1         | 1.90  | 0.52     | 0.4955    |
| <b>X1* X2* X3</b>       | 83.03         | 1         | 83.03 | 22.64    | 0.0021    |
| <b>Kalıntı</b>          | 25.67         | 7         | 3.67  |          |           |
| <b>Uyumsuzluk</b>       | 7.03          | 3         | 2.34  | 0.50     | 0.7004    |
| <b>Saf Hata</b>         | 18.64         | 4         | 4.66  |          |           |
| <b>Toplam</b>           | <b>530.62</b> | <b>13</b> |       |          |           |

X<sub>1</sub>= Hekzan, X<sub>2</sub>= Aseton, X<sub>3</sub>= Metanol,

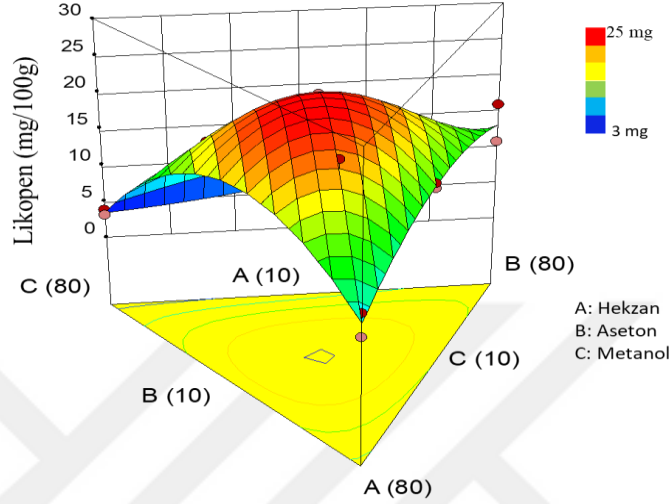
Tablo 4.4'den de görüldüğü gibi, model terimlerinin neredeyse tümü önemli çıkmıştır (p<0.05). Doğrusal karışım (hekzan, aseton ve metanol, p=0.0045), hekzan\*aseton interaksyonu (p=0.0466), hekzan\*metanol interaksyonu (p=0.0012) ve özel kübik interaksyonu (hekzan\*aseton\*metanol, p=0.0021) önemli derecede etkili faktörlerdi. Bununla birlikte, aseton\*metanol interaksyonu incelenen yanıt için önemli olmadığı (p>0.05) görülmüştür. Kodlanmış faktörler kullanılarak tahmini likopen miktarlarını gösteren polinomiyal denklem aşağıdaki gibidir;

$$Likopen \frac{mg}{100g} = 5.07X_1 + 21.71X_2 + 2.06X_3 - 48.21X_1X_2 + 8.70X_1X_3 - 93.08X_2X_3 + 807.55X_1X_2X_3 \quad (4.1)$$

Denklemdaki (4.1) katsayılar, değişkenlerin ekstraksiyonda etkisini göstermektedir. Katsayıların değeri arttıkça değişkenin etkiside yükselmektedir. Katsayıların pozitif işareti, çözücülerin arasındaki sinerjiyi (pozitif etki) ifade etmektedir. Negatif işaret ise, çözücülerin arasındaki antagonistik (negatif etki) etkiyi göstermektedir. Tüm linear etkiler (X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> ve X<sub>3</sub>), tek bir interaksyon (X<sub>1</sub>\*X<sub>3</sub>) ve özel kübik interaksyonun katsayısı (X<sub>1</sub>\*X<sub>2</sub>\*X<sub>3</sub>) pozitif, diğer interaksyonlar (X<sub>1</sub>\*X<sub>2</sub> ve X<sub>2</sub>\*X<sub>3</sub>) negatif, yani antagonistik etkiye sahiptirler. Katsayıların büyüklüğü açısından incelendiğinde, üçlü karışım (X<sub>1</sub>\*X<sub>2</sub>\*X<sub>3</sub>) en etkilisidir. Diğer ifadeyle, hekzan:aseton:metanol karışımı likopen verimliliği üzerine çok yüksek sinerjistik etkiye sahiptir.

Modelin denkleminde (denklem 4.1) gidilerek, yanıt yüzeyi ve kontur çizimleri yapılmıştır. Üç boyutlu grafik (Şekil 4.2) farklı çözücü seviyeleri ve karışımlarından

oluşan matris içinde ekstrakte edilen likopen miktarının değişimini göstermektedir. Üçgenin köşelerinden merkezine doğru ilerledikçe likopen veriminin arttığı gözlenmiştir. Metanol köşesi, diğer köşelerden (hekzan veya aseton) daha düşük ekstraksiyon verimliliğine sahiptir. Genel olarak, merkeze yakın üçlü karışımlar en yüksek elde edilen likopen değerleri sergilemiştir.



Şekil 4.2. Farklı çözücü karışımları (hekzan :aseton :metanol) kullanılarak Simpleks-kafes tasarımıyla elde edilen likopen ekstraksiyon verimleri için yanıt yüzey grafikleri

Likopen, hücrelerde kromoplastta bulunup yağda çözünen bir bileşiktir. Ekstraksiyonu hem polar hem de polar olmayan çözücülerle yapılır. Polar çözücüler (aseton, alkoller vb.), ekstraksiyon işlemi sırasında hücresel zarları parçalar ve matris içine nüfuz ederler. Bu arada, yüksek afiniteli (hekzan) polar olmayan çözücüler, yağda çözünen bileşikler matrislerinden çıkarır (Strati ve Oreopoulou, 2011; Zuorro, 2020). Çözücülerin hiçbiri kendi başına tam etkili değildir. Ancak 3 çözücü birlikte matrisinden likopen ekstrakte etmek için sinerjistik bir etki sergiler.

Daha önceki çalışmalarda da, yanıt yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak en iyi çözücü karışımları araştırılmıştır. Periago vd. (2004), domates ürünlerinden likopen geri kazanımını artırmak için Simplex Centroid'i kullanmışlardır. % 47.8'i-59.10 hekzan, % 6.1- 18.11 aseton ve % 23.10-37.1 etanol karışımının çiğ domates, domates sosu ve domates salçasından likopen geri kazanımını arttırmada etkili olduğunu bulmuşlardır. Zuorro (2020) aynı karışım tasarımını domates kabuklarına uygulamış ve % 30.6 hekzan, % 36.6 aseton ve % 32.8 etanol kullanarak maksimum ekstraksiyon

verimine (% 98.56) ulaşmıştır. Çalışmalardan da görüldüğü gibi, ekstraksiyon koşullarından bağımsız olarak, her matrisin kendi ekstraksiyonu için farklı karışım gerekmektedir (Periago vd., 2004). Domates atıklarıyla ilgili diğer bir çalışmada, karışımdaki yüksek hekzan oranının (% 45-75) likopen eldesinde verim artışına sebep olduğu bildirilmiştir (Poojary ve Passamonti, 2015a, 2015b; Strati ve Oreopoulou, 2011). Bu sonuçlar, mevcut çalışma ile uyumludur. Hekzan, likopen ekstraksiyonu için ana çözücüdür.

#### 4.2.2. Optimum Ekstraksiyon Karışımı ve Modelin Doğrulanması

Yüksek bir likopen geri kazanımı elde etmek için optimum çözücü karışımı araştırılmıştır (Tablo 4.5). Bunun için istenilirlik fonksiyonu kullanılmış ve optimum çözücü karışımı; hekzan, aseton ve metanol oranları sırasıyla % 43.33, % 28.42 ve % 28.25 olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda tahmin edilen likopen miktarı 24.70 mg/100g, deneysel sonuç ise ortalama 24.41 mg/100 g olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Optimal çözücü karışımı için tahmin edilen ve deneysel değerleri.

|                                    | Toplam<br>çözücü<br>karışımı | Hekzan,<br>%    | Aseton,<br>%  | Metanol,<br>% | Likopen<br>mg/100g<br>FW | verim %         | İstenirl<br>-irlik |
|------------------------------------|------------------------------|-----------------|---------------|---------------|--------------------------|-----------------|--------------------|
| <b>Tahmin<br/>edilen<br/>değer</b> | 100%<br>(3.5)                | 43.33<br>(≈1.5) | 28.42<br>(≈1) | 28.25<br>(≈1) | 24.70                    | 92.65           | 1.00               |
| <b>deneysel<br/>değer</b>          | 100%<br>(3.5)                | 43.33<br>(≈1.5) | 28.42<br>(≈1) | 28.25<br>(≈1) | 24.41 ±<br>1.34          | 91.57 ±<br>1.34 |                    |

Gerek yüksek istenirlilik (= 1.00) değeri gerekse tahmin edilen ile saptanan değerlerin birbirine yakın olması, sonucu doğrulamıştır. Karışım (hekzan: aseton: metanol, 1.5: 1: 1), güzyemişi meyvelerinden likopen ekstraksiyonu için uygun bulunmuştur.

#### 4.2.3. Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Uygun çözücü karışımı belirlendikten sonra ikinci kısımda, ekstraksiyon koşullarının (sıcaklık, pulp-çözücü oranı ve süre) optimizasyonu hedeflenmiştir. Bunun için optimal karışım (1.5: 1: 1, hekzan: aseton: metanol) ve Box Behnken tasarımı (BBD) kullanılmıştır. Üç bağımsız değişken ; sıcaklık (20-60 °C,  $X_1$ ), pulp-çözücü oranı (1:20-1:70,  $X_2$ ) ve süre (5-45 dak,  $X_3$ ), likopen ekstraksiyonun

verimliliğini optimize etmek için seçilmiştir. Likopen verimlerinin deneysel sonuçları Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Box Behnken tasarımıyla elde edilen kodlanmış ve gerçek değişkenler ile likopen veriminin deneysel sonuçları.

| Nokta | Kodlanmış değişkenler |       |       | Gerçek değişkenler (%) |       |       | Yanıt                  |                       |
|-------|-----------------------|-------|-------|------------------------|-------|-------|------------------------|-----------------------|
|       | $X_1$                 | $X_2$ | $X_3$ | $X_1$                  | $X_2$ | $X_3$ | Likopen verimi mg/100g | Ekstraksiyon verimi % |
| 1     | -1                    | -1    | 0     | 20                     | 10    | 25    | 6.29                   | 23.61                 |
| 2     | -1                    | 0     | -1    | 20                     | 40    | 5     | 15.87                  | 59.55                 |
| 3     | -1                    | 0     | 1     | 20                     | 40    | 45    | 23.37                  | 87.69                 |
| 4     | -1                    | 1     | 0     | 20                     | 70    | 25    | 23.45                  | 87.97                 |
| 5     | 0                     | -1    | -1    | 40                     | 10    | 5     | 8.75                   | 32.81                 |
| 6     | 0                     | -1    | 1     | 40                     | 10    | 45    | 14.72                  | 55.23                 |
| 7     | 0                     | 0     | 0     | 40                     | 40    | 25    | 17.96                  | 67.38                 |
| 8     | 0                     | 0     | 0     | 40                     | 40    | 25    | 24.58                  | 92.22                 |
| 9     | 0                     | 0     | 0     | 40                     | 40    | 25    | 24.69                  | 92.62                 |
| 10    | 0                     | 0     | 0     | 40                     | 40    | 25    | 24.44                  | 91.69                 |
| 11    | 0                     | 0     | 0     | 40                     | 40    | 25    | 26.30                  | 98.65                 |
| 12    | 0                     | 1     | -1    | 40                     | 70    | 5     | 24.93                  | 93.54                 |
| 13    | 0                     | 1     | 1     | 40                     | 70    | 45    | 24.99                  | 93.76                 |
| 14    | 1                     | -1    | 0     | 60                     | 10    | 25    | 15.22                  | 57.11                 |
| 15    | 1                     | 0     | -1    | 60                     | 40    | 5     | 23.47                  | 88.04                 |
| 16    | 1                     | 0     | 1     | 60                     | 40    | 45    | 21.43                  | 80.38                 |
| 17    | 1                     | 1     | 0     | 60                     | 70    | 25    | 26.81                  | 100.56                |

Kodlanmış değişkenler ( $X_1$ =sıcaklık,  $X_2$ =Meyve-çözücü oranı,  $X_3$ =süre,).

Tablo 4.6'dan görüldüğü gibi, 17 deneysel nokta arasında likopen verimi geniş bir varyasyon göstermiştir. Likopen verimi, en düşük 20°C, 1:10, 25 dakika ekstrakte edilenlerde (6.29 mg / 100g ve % 23.61), en yüksek 60 °C, 1:70 pulp-çözücü oranında 25 dakika ekstrakte edilenlerde (26.81 mg /100g, % 100.56) saptanmıştır. Ulaşılan verim referans örneğinde  $26.66 \pm 2.33$  mg /100g'dır.

Üç bağımsız değişkenin yanıt (likopen verimi) üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu ve önerilen modeller Tablo 4.7' de verilmiştir. Görüldüğü gibi, kuadratik model önemli ( $p=0.0039$ ) ve model uyumsuzluğu ise önemsiz ( $p=0.8933$ ) bulunmuştur. Dolayısıyla bu model, deneysel verilerin temsili için ve optimum ekstraksiyon koşullarını tanımlamak için uygundur.

Tablo 4.7. Likopen ekstraksiyonunun optimizasyonu için ANOVA regresyon model sonuçları.

| Uyumsuzluğun testleri |        |     |       |          |           | Model Özet İstatistikleri |                |                     |        |
|-----------------------|--------|-----|-------|----------|-----------|---------------------------|----------------|---------------------|--------|
| Kaynak                | K.T    | S.D | K.O   | F Değeri | p- Değeri | p- Değeri                 | R <sup>2</sup> | Düz- R <sup>2</sup> | PRESS  |
| <b>Linear</b>         | 139.07 | 9   | 15.45 | 1.47     | 0.3759    | -                         | 0.7074         | 0.6399              | 290.11 |
| <b>2 FI</b>           | 99.79  | 6   | 16.63 | 1.59     | 0.3409    | -                         | 0.7709         | 0.6334              | 359.13 |
| <b>Kuadratik</b>      | 6.20   | 3   | 2.07  | 0.20     | 0.8933    | 0.0039                    | 0.9222         | 0.8222              | 164.72 |

Tablo 4.8. Ekstraksiyon koşullarının bir fonksiyonu olarak likopen miktarı için varyans analiz tablosu (ANOVA).

| Kaynak            | K.T    | S.D. | K.O    | F Değeri | p- Değeri |
|-------------------|--------|------|--------|----------|-----------|
| <b>Model</b>      | 570.43 | 9    | 63.38  | 9.22     | 0.0039    |
| <b>X1</b>         | 40.19  | 1    | 40.19  | 5.85     | 0.0462    |
| <b>X2</b>         | 380.86 | 1    | 380.86 | 55.40    | 0.0001    |
| <b>X3</b>         | 16.51  | 1    | 16.51  | 2.40     | 0.1651    |
| <b>X1* X2</b>     | 7.77   | 1    | 7.77   | 1.13     | 0.3231    |
| <b>X1* X3</b>     | 22.76  | 1    | 22.76  | 3.31     | 0.1116    |
| <b>X2* X3</b>     | 8.75   | 1    | 8.75   | 1.27     | 0.2964    |
| <b>X12</b>        | 9.25   | 1    | 9.25   | 1.35     | 0.2842    |
| <b>X22</b>        | 73.18  | 1    | 73.18  | 10.65    | 0.0138    |
| <b>X32</b>        | 4.88   | 1    | 4.88   | 0.71     | 0.4273    |
| <b>Kalıntı</b>    | 48.12  | 7    | 6.87   |          |           |
| <b>Uyumsuzluk</b> | 6.20   | 3    | 2.07   | 0.20     | 0.8933    |
| <b>Saf Hata</b>   | 41.92  | 4    | 10.48  |          |           |
| <b>Toplam</b>     | 618.56 | 16   |        |          |           |

X<sub>1</sub>: Sıcaklık, X<sub>2</sub>: pulp-çözücü oranı, X<sub>3</sub>: Süre

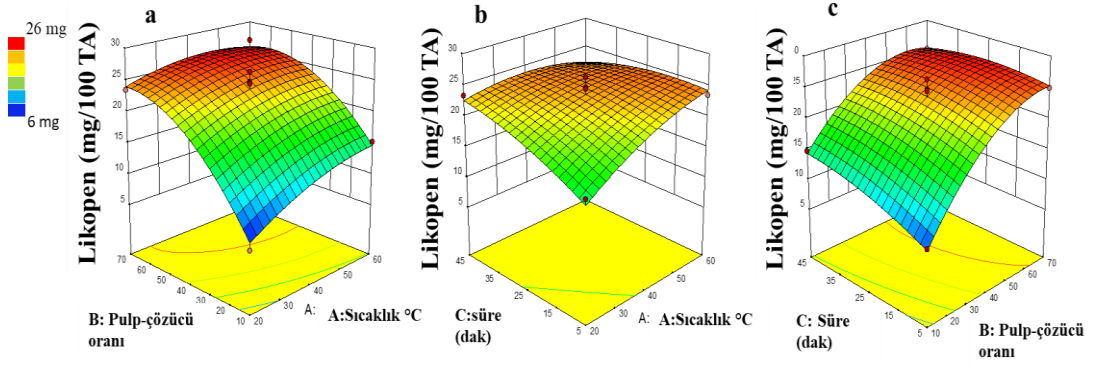
DeneySEL verinin model tarafından karşılama derecesi regresyon katsayısı (R<sup>2</sup>) ve düzeltilmiş regresyon katsayısı (Düz.R<sup>2</sup>) ile ifade edilmektedir. Regresyon katsayısı (R<sup>2</sup>=0.9222) ve düzeltilmiş regresyon katsayısının (Düz.R<sup>2</sup>=0.8222) yeterince yüksek olduğunu görülmektedir (Tablo 4.7). Bu yüksek değerler likopen miktarlarının tahmin edilen değerler ile deneySEL sonuçların birbirine yakın olduğu anlamına gelmektedir. PRESS, değerinin düşük olması da kuadratik modelin uygunluğunun anlamlı olduğunu göstermektedir.

Kuadratik modele ait ANOVA sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir. ANOVA sonuçlarına göre, linear olarak sıcaklık (X<sub>1</sub>) ve pulp-çözücü oranı (X<sub>2</sub>) önemli

derecede etkili olmuştur. Kuadratik olarak sadece pulp-çözücü oranı ( $X_2^2$ ) etkili olmuştur ( $p < 0.05$ ). Hiçbir interaksiyon likopen ekstraksiyonu üzerinde önemli bir etki göstermemiştir ( $p > 0.05$ ). Kodlanmış faktörler kullanılarak tahmini likopen miktarlarını aşağıdaki polinomiyal denklemle bulmak mümkündür;

$$\text{Likopen} \frac{mg}{100g} = 23.59 + 2.24X_1 + 6.90X_2 + 1.44X_3 - 1.39X_1X_2 - 2.39X_1X_3 - 1.48X_2X_3 - 1.48X_1^2 - 4.17X_2^2 - 01.08X_3^2 \quad (4.2)$$

Üç bağımsız değişkenin likopen miktarı üzerine etkisini daha iyi görmek için, üç boyutlu grafik çizilmiştir. Şekil 4.3.a 'dan da görüldüğü gibi, artan sıcaklık ve çözücü oranı likopen verimi üzerine pozitif bir etki göstermiştir. Yüksek sıcaklık ve çözücü oranları, ekstraksiyon veriminin artışına yol açmıştır. Pulp-çözücü oranındaki artışın sıcaklık artışından daha etkili olduğu açıkça görülmüştür. Diğer yandan, her iki faktör düşük değerlerinde ( $X_1 < 30$  °C,  $X_2 < 1:20$ ), 10 mg'den daha az ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Genel olarak, 40 °C'lik bir sıcaklık ve 1: 40'ın üzerinde çözücü oranında ekstraksiyon veriminde artış saptanmıştır. Şekil 4.3.b de, sıcaklık ve sürenin likopen verimi üzerine etkisi görülmektedir. Aslında, süre ekstraksiyon verimi üzerinde dikkate değer bir etki göstermemiş, ekstraksiyonun başlangıcında (ilk 25 dak) hafif bir artışa yol açmış, sonra sabit bir seviyeye gelmiştir. 40 °C'nin altındaki sıcaklıklarda ve 25 dakikadan düşük ekstraksiyon süresinde düşük bir likopen geri kazanımı olmuştur. Şekil 4.3.c, pulp-çözücü oranının ekstraksiyon süresinden çok daha etkili olduğunu göstermektedir. Ekstraksiyon süresine bakılmaksızın, en yüksek likopen değerleri 1: 50'nin üzerindeki çözücü oranında elde edilmiştir. Güzyemişi meyvesinde uzun bir ekstraksiyon süresi (45 dakikaya kadar) uygulanmasının gereği yoktur. Bu bulgulardan, sıcaklığın ve özellikle çözücü oranının artması likopen geri kazanımını artırırken, süre artışının etkisi sınırlı kalmıştır.



Şekil 4.3. Ekstraksiyon değişkenlerinin ( $A=X_1$ : Sıcaklık,  $B=X_2$ : Pulp-çözücü oranı,  $C=X_3$ : süre) likopen ekstraksiyon verimleri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği

Günümüze kadar, doğal kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin geri kazanımını artırmak için birçok çalışma yapılmıştır. Oberoi ve Sogi (2017), karpuzdan likopenin ekstraksiyon koşullarını optimize etmek için RSM metodolojisini kullanmış ve çözücü olarak hekzan, aseton ve etanolü seçmişlerdir. Düşük sıcaklıklarda ( $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) likopen veriminin düşük olduğunu, sıcaklık artışıyla ( $\approx 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) verimin arttığını, daha yüksek sıcaklığa çıkıldığında tekrar düştüğünü saptamışlardır. Çözücünün karpuz pulpuna oranının artırılması da likopen verimini artırmıştır. Ekstraksiyon süresinin hafif bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Benzer çalışmalarda da, aynı eğilim gözlemlenmiş ve likopen geri kazanımı, sıcaklık arttıkça artmıştır (Kaur vd., 2008).

Yüksek ekstraksiyon sıcaklığı, çözücülerin viskozitesini düşürmekte, böylece ekstraksiyon verimliliğini artırmaktadır. Sıcaklık artışı, bitki matrisi boyunca difüzyonu ve dolayısıyla likopenin kütle transfer katsayısını iyileştirmektedir (Pierre vd., 2002). Termal süreç, hücresel sistemin parçalanması ve zarların parçalanması yoluyla çözücülerin nüfuz etmesine yardımcı olabilmektedir (Oberoi ve Sogi, 2017; Periago vd., 2004). Çözücü oranının artırılması, matris içinden maddeyi alır ve biyoaktif bileşiklerin verimini artırır. Yüksek çözücü oranı, çözücü (% 0) ve matris (% 100) arasında yüksek bir konsantrasyon gradyanı sağlar. Buna karşılık, bu gradyan, bileşiklerin matrisinden kütle transferini ve ekstraktların zenginleştirilmesini teşvik eder (Kunthakudee vd., 2020). Çalışılan meyve türü, meyvenin durumu (tazeliği, işlem görmüş olması, tane boyutu ...) ve meyvenin kısmı (posa, kabuklar, tohumlar...) süreyi etkileyebilmektedir (Chuyen vd., 2017; Kaur vd., 2008; Munde vd., 2017). Pek çok çalışmadan farklı olarak, bu çalışmada kısa ekstraksiyon süresi yeterli olmuştur.

#### 4.2.4. Optimum Ekstraksiyon Koşulu ve Modelin Doğrulanması

Yazılım programı tarafından önerilen istenirliklik fonksiyonu dikkate alınarak optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiş ve optimum ekstraksiyon koşullarındaki tahmini ve deneysel sonuçlar Tablo 4.9’de verilmiştir. Yanıt (likopen verimi) maksimum olacak koşullar : 49 °C sıcaklık, 1:64 pulp-çözücü oranı ve 15 dakikalık ekstraksiyon süresi şeklinde verilmiştir. Bu koşullarda likopen verimi tahmini 26.82 mg/100 g olarak verilmiş, deneysel veri de ona çok yakın olmuştur.

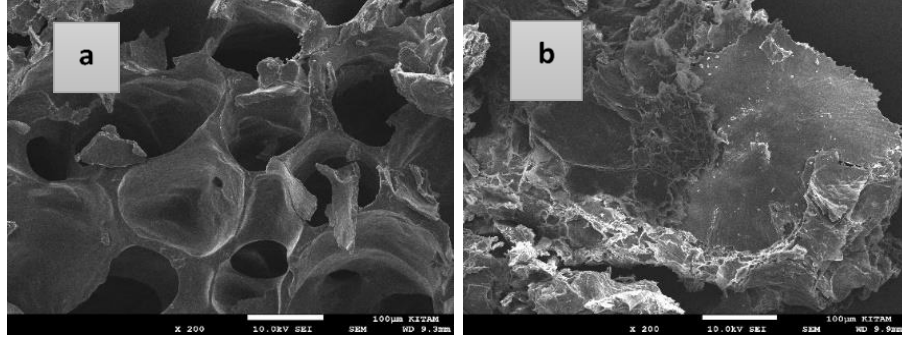
Tablo 4.9. Optimal koşullar için tahmin edilen değerler ve deneysel sonuçlar.

|                                | Sıcaklık,<br>°C | Pulp-<br>çözücü<br>oranı | Süre,<br>dak | Likopen<br>mg/100g<br>FW | Verim %     | İstenirlik<br>lik |
|--------------------------------|-----------------|--------------------------|--------------|--------------------------|-------------|-------------------|
| <b>Tahmin<br/>edilen değer</b> | 49.36           | 1:64.72                  | 15.30        | 26.82                    | 100.61      | 1.00              |
| <b>Deneysel<br/>değer</b>      |                 |                          |              | 26.55 ±0.57              | 99.61 ±2.15 |                   |

Yüksek ekstraksiyon etkinliği, güzyemişi meyvelerinden toplam likopen geri kazanımı için modelin geçerliliğini ve kullanılabilirliğini göstermektedir. Kuşkusuz, bu çalışmada elde edilen ekstraksiyon koşulları, uygulanan farklı faktörlere bağlı olarak değişebilir. Meyvelerin ön işleme tabi tutulması (kurutma, haşlama vb) ve yeni uygulamaların (çözücü, enzim, ultrason vb) yapılması, optimum ekstraksiyon sürecini olumlu veya olumsuz etkileyecektir. Bu nedenle, değişen koşullara bağlı yeni bir optimizasyon çalışması gerekli olacaktır.

#### 4.2.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonuçları

Ekstraksiyon öncesi ve sonrası güzyemiş meyvesi dokusunun morfolojisinin SEM görüntüleri Şekil 4.4'de verilmiştir. Ekstraksiyon işleminden önce meyve dokusu gözenekli süngerimsi bir yapı sahiptir (Şekil 4.4.a). Yuvarlak ve hemen hemen tekdüze gözenekler içeren hücre yapısı gösterirken, optimum koşullarda ekstraksiyon sonrası yapı önemli derecede değişikliğe uğramıştır (Şekil 4.4.b).



Şekil 4.4. Ekstraksiyon (a) öncesi (b) sonrası güzyemişi meyvelerinin morfolojik yapısının SEM görüntüsü (x 200).

Çözücü-termal işlemin hücresel yapı üzerinde zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Bitki hücrelerinde iskeleti oluşturan selülozik ve pektik polimerler bu etkiye karşı duyarlıdır (Ashraf vd., 2020; Zuorro, 2020). Enzimatik destekli işlemler (selülaz, pektinaz) ve mekanik destekli (ultrason, mikrodalga vb) teknikler, hücresel parçalanmayı önemli ölçüde değiştirmektedirler (Ashraf vd., 2020; Munde vd., 2017; Rahimpour ve Dinani, 2018). Genel olarak, hücresel yapının parçalanması, çözücülerin penetrasyonunu ve bileşiklerin kütle transferini ve dolayısıyla biyoaktif bileşiklerin eldesini kolaylaştırmaktadırlar.

#### 4.2.6. Optimum Noktada Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bir ekstraktın antioksidan aktivitesi, serbest radikalleri temizleme ve oksidasyonu önleme yeteneğini göstermektedir. Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen hekzan ekstraktının antioksidan aktivitesi, ABTS ve DPPH serbest radikallerini giderme yeteneği değerlendirilerek analiz edilmiştir. Tablo 4.10'dan görüldüğü gibi, ekstraktın ABTS ve DPPH serbest radikallerini giderme etkisi sırasıyla 424.28 mM TE ve 317.41 mM TE / 100g olarak belirlenmiştir. Domates ürünleri üzerine yapılan çok sayıda çalışmada, oleoresin ve ekstraktlarda likopen artışıyla antioksidan aktivitenin de arttığı göstermiştir (Munde vd., 2017; Zuorro, 2020)

Tablo 4.10. Optimum ekstraksiyon koşullarında likopen verimi, III/II% indeksi ve ekstraktının antioksidan aktivitesi.

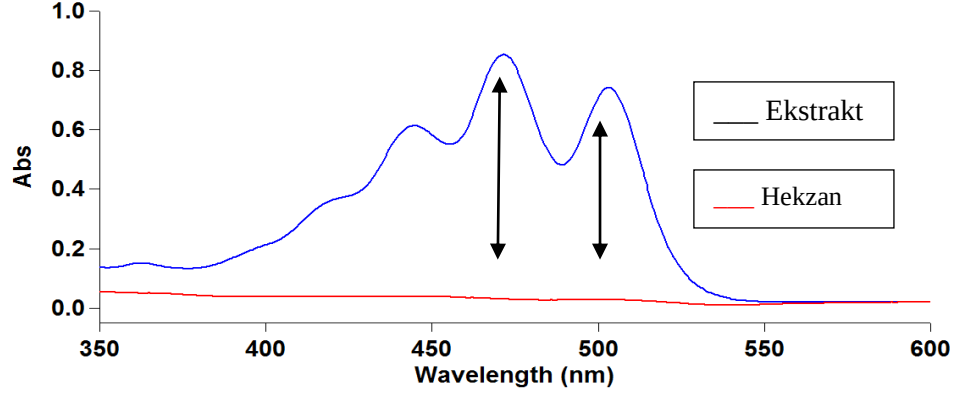
| Özellik           | Miktar      |
|-------------------|-------------|
| Likopen, mg/100g  | 26.55 ±0.57 |
| Likopen verimi, % | 99.61 ±2.15 |

|                          |                    |
|--------------------------|--------------------|
| <b>III/II% indeksi</b>   | 88.89 $\pm$ 0.23   |
| <b>DPPH, mM TE/100g</b>  | 317.41 $\pm$ 22.24 |
| <b>ABTS, mM TE /100g</b> | 424.28 $\pm$ 34.07 |

Hekzan ekstraktı, kayda değer antioksidan aktivite göstermiştir, ancak yine de metanol ekstraktlarına kıyasla daha düşük bulunmuştur (Tablo 2.1 ve Tablo 4.10). Çeşitli antioksidanlar polar, orta polar veya polar olmayan çözücülerde çözünebilmektedir (Rababah vd., 2010). Bu çalışmada, polar çözücüler (aseton, metanol) ve polar olmayan çözücü (hekzan) karışımı ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Fenolik madde ve suda çözünür bileşikler, polar çözücülerde çözüldüğü için, polar olmayan fazda sadece karotenoidler ve diğer yağda çözünür bileşikler geri kazanılır. Muhtemelen polar olmayan fazda çözünenlerin Chuyen vd. (2017)'nin da bildirdikleri gibi antioksidan aktivitesi daha düşüktür. Adı geçen araştırmacılar, hekzan ekstraktlarının düşük antioksidan aktivite sergilediğini, etil asetatın hem karotenoidleri hem de fenolik bileşikleri ekstrakte etmek için mükemmel bir çözücü olabileceğini bildirmişlerdir. Radikallerle reaksiyonun hızı ve kinetiği, çözücü tipine göre değişebileceği bildirilmiştir (Rababah vd., 2010).

#### **4.2.7. UV-Görünür Alan ve Fourier Transform Infrared (FTIR) Analizleri**

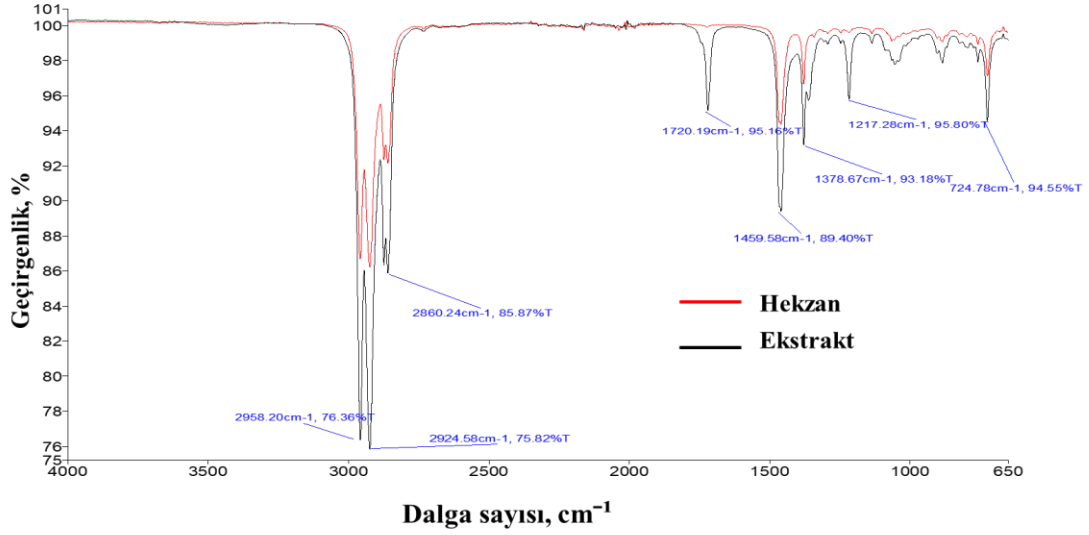
Ekstraktın UV-Vis spektrumu Şekil 4.5'te verilmiştir. Görüldüğü gibi, taranan dalga boylarında üç pik (444, 470 ve 502 nm) elde edilmiştir. Bu absorbans özellikleri tipik olarak literatürdeki standart likopene benzerlik göstermektedir. 502 nm'de absorbans, likopen içeriği ile ilişkilendirilmiştir (Kunthakudee vd., 2020; Poojary ve Passamonti, 2015a; Zuorro, 2020).



Şekil 4.5. Optimum koşullarda elde edilen güzyemişi meyve ekstrakt ve hekzanın UV-Vis absorpsiyon spektrumu.

Daha öncede ifade edildiği gibi, likopen, trans ve cis olmak üzere iki izomer formunda bulunur. All-trans formu, doğadaki baskın likopen formudur (Britton, 1995). Hesaplanan % III / II indeksi (Tablo 4.10), güzyemişi meyvelerinden elde edilen ekstraktın% 89'a kadar all-trans likopen içerdiğini tahmin edilmektedir. Üretim koşulları ve ısı işlemler likopenin stabilitesini olumsuz etkileyebilmekte ve all-transdan cis formlarına kadar izomerizasyonuna yol açabilmektedir (Britton, 1995; Calvo vd., 2017).

Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktın FTIR spektrumu Şekil 4.6'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, hem çözücü (hekzan) hem de ekstrakt, absorbans yakın dalgasayıları sergilemiştir ( $2958.20\text{--}2860.24\text{ cm}^{-1}$ ,  $1459.58\text{ cm}^{-1}$ ,  $1378.67\text{ cm}^{-1}$ ,  $724.78\text{ cm}^{-1}$ ). Bu, çok sayıda benzer işlevsel grubun varlığını açıklamaktadır. Ekstrakt daha yüksek bir konsantrasyona sahipti. Bu yoğunluk, hekzan ekstraktının önemli ölçüde fonksiyonel gruplardan arındırıldığı anlamına gelmektedir.



Şekil 4.6. Hekzan ve optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen güzyemişi meyve ekstraktlarının FTIR spektrumları.

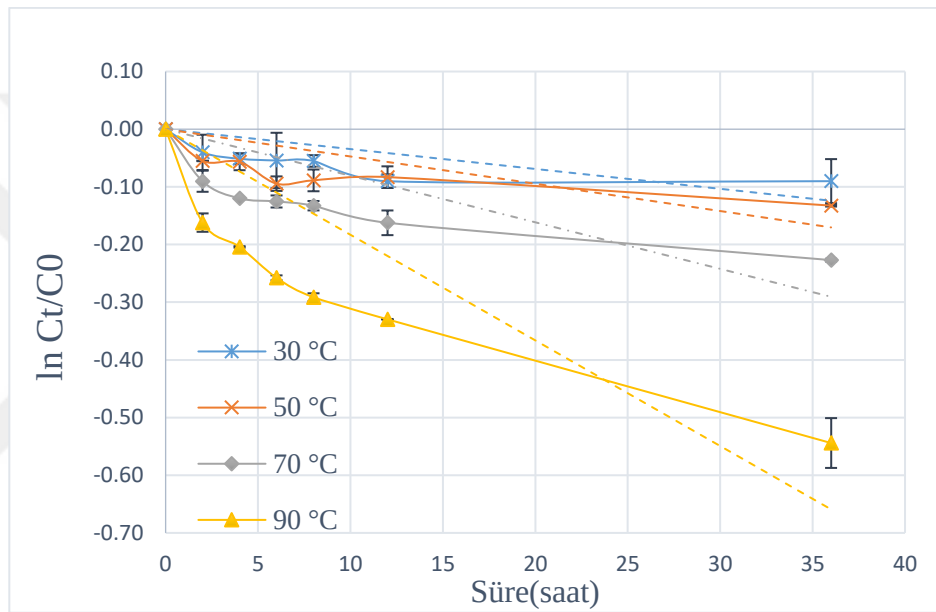
Lopez-Cervantes vd. (2014) ve Munde vd. (2017) domates ekstraktında yaptıkları çalışma, bu sonuçlarla uyumludur. Araştırmacıların da bildirdiği gibi, 2958.20 ile 2860.24  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki keskin pikler C-H gruplarının asimetrik gerilmesini (asymmetric stretching), 1459.58 ve 1378.67  $\text{cm}^{-1}$  'deki dikkate değer piklerin C-H<sub>2</sub> eğilmesini (bending) temsil etmektedir. Bu arada, 900  $\text{cm}^{-1}$ 'e yakın titreşim pikleri, C-C-H<sub>2</sub> ve C-OH likopen gruplarının gerilmelerini (stretching) göstermektedir. Ayrıca, ekstrakt spektrumu 1720.19 ve 1217.28  $\text{cm}^{-1}$  frekansında iki yeni küçük pik vermiştir. Bunun anlamı, yeni bileşenler ekstrakt edilmiş, yeni fonksiyonel gruplar ortaya çıkmıştır. Bunlar sırasıyla karbonil (=O) gerilme (stretching), C-O ve /veya C-H gerilmeleri ile ilişkili olabilir (Rahimpour ve Dinani, 2018). Lopez-Cervantes vd. (2014) olgun domateslerde, 1709 ve 1743  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki piklerin lipidler için tipik olduğunu belirtmişlerdir. Ekstraksiyon sırasında, güzyemişi meyvelerindeki karotenoidler, tokoferoller ve yağ asitleri gibi birçok yağda çözünür bileşenler (Ahmad vd., 2006), polar olmayan çözücude çözünmüşlerdir.

#### 4.2.8. Yağ Sistemindeki Likopenin Termal Degradasyon Kinetiği

Fındık yağında dağılan likopenin termal degradasyonun kinetiği, birinci dereceden reaksiyon kinetik kinetiğine uymuştur. Tablo 4.11 ve Şekil 4.7'de, farklı sıcaklıklarda (30, 50, 70 ve 90 °C) degradasyon kinetiği ve termodinamik parametreleri özetlenmiştir.

Tablo 4.11. Fındık yağında dağılan likopenin termal degradasyonunun kinetik ve termodinamik parametreleri.

| Sıcaklık ° C | K, 10 <sup>-3</sup> .saat <sup>-1</sup> | R <sup>2</sup> | t <sub>1/2</sub> ,<br>saat | E <sub>a</sub> , kJ/mol | ΔG,<br>KJ/mol | ΔH,<br>KJ/mol-k | ΔS, 10 <sup>-3</sup><br>KJ/mol-k |
|--------------|-----------------------------------------|----------------|----------------------------|-------------------------|---------------|-----------------|----------------------------------|
| 30           | 3.40                                    | 0.7005         | 203.87                     | 24.61                   | 86.69         | 22.65           | -211.25                          |
| 50           | 4.70                                    | 0.7352         | 147.48                     |                         | 91.73         | 22.49           | -214.26                          |
| 70           | 8.10                                    | 0.7603         | 85.57                      |                         | 96.06         | 22.33           | -214.85                          |
| 90           | 18.30                                   | 0.8381         | 37.88                      |                         | 99.41         | 22.17           | -212.72                          |



Şekil 4.7. Fındık yağında dağılan likopenin termal degradasyonunun kinetiği.

Likopen içeriği için, k değeri, sıcaklığın 30 °C'den 90 °C'ye yükselmesiyle birlikte, 3.4.10<sup>-3</sup> ve 18.3.10<sup>-3</sup>saat<sup>-1</sup>'e ani bir şekilde artmıştır. Bu, likopenin termal degradasyonunun ısıtmayla çok hızlandığını göstermektedir. Likopen ve yağ içinde dağılan karotenoidler, sıcaklık artırıldığında benzer degradasyon eğilimi göstermiştir (Colle vd., 2010; Henry vd., 1998). Sıcaklığın etkisi, yarı ömür (37saat, 85saat, 147 saat ve 203 saat) üzerinde de görülmüştür. En kısa süre sıcaklık 90 °C ve ardından 70, 50 ve 30 ° C'de saptanmıştır.

Degradasyon reaksiyonunu başlatmak için gereken aktivasyon enerjisi 24.61 KJ / mol olarak belirlenmiştir. Bu değer, aspir tohumu yağında dağılan likopen ve B-karoten için bildirilen (sırasıyla 19.8 ve 26.2 KJ / mol) sınırlar içindeydi (Henry vd.,

1998). Ancak, zeytinyağında dağılmış likopen için 28.1 KJ / mol (Colle vd., 2010), ince kurutulmuş yüzey sisteminde likopen için 61.0 KJ / mol (Lee ve Chen, 2002) sulu modelde  $\beta$ -kriptoksantin için 156 KJ / mol (Dhuique-Mayer vd., 2007) bildirilenlerden daha düşüktür.

Termodinamik stabilite, aktif ve reaktan durumu arasındaki farkı vurgular. Gibbs serbest enerji aktivasyonu ( $\Delta G$ ) ve aktivasyon entalpisi ( $\Delta H$ ), degradasyonu kendiliğinden olmayan ve endotermik reaksiyon şeklinde pozitif değerler göstermiştir. Bununla birlikte, aktivasyon entropisinin ( $\Delta S$ ) negatif değerleri (-211 ila -214  $10^{-3}$  KJ / mol-k), reaksiyonun entropik olarak elverişsiz olduğunu ve reaktiflerden yapısal olarak daha organize olduğunu açıklamaktadır (Ariahu vd., 2021). Dolayısıyla, model sistemin değişimi degradasyon kinetiğini ve reaksiyonun yoğunluğunu etkilemektedir. Belirli bir sisteme polimerlerin (gam arabik, pektin, polidekstroz, vb.) varlığı veya eklenmesi, bozunma oranını azaltacak ve hassas moleküllerin korunmasını geliştirecektir (Ariahu vd., 2021; Lee ve Chen, 2002). Polimerler, yıkıcı enerjiye karşı duvar veya bariyer rolü oynarlar. Bu nedenle, çeşitli kapsülleme tekniklerinin uygulanması, ürünün muhafazasını iyileştirir ve ömrünü uzatır.

### **4.3. Likopenin Enkapsülasyonu ve Optimizasyonu**

#### **4.3.1. Emülsiyonların Reolojik Özellikleri**

Emülsiyonların akış davranışını izlemek için reolojik analizler yapılmıştır. Püskürtmeli kurutucu için hazırlanan numunelerle, sadece kaplayıcıları içeren kontrol örnekleri ve likopen içeren yağın görünür viskoziteleri ölçülmüş, sonuçların Power-law modeline uygun olduğu görülmüştür (Tablo 4.12). Sadece maltodekstrin, gam arabik ve ikisinin karışımını içeren kaplayıcıların görünür viskozitelerinin birbirinden çok farklı olduğu kaydedilmiştir. Sadece maltodekstrin ile kapsüllenen (1-4) örnekler en düşük, gam arabik ile hazırlananlar (12-15. noktalar) en yüksek, her iki polimerin (1:1) karışımına sahip emülsiyonlar ise orta derecede viskozite değerleri göstermiştir. Maltodekstrin ile hazırlanan emülsiyon en düşük değerleri verirken, gam arabik ile karışım viskoziteyi arttırmıştır. Öte yandan, % 100 gam arabik emülsiyonu en yüksek görünür viskoziteyi vermiştir. Kontrol numunelerinde gösterdiği gibi (yağ, 1:0, 1:1, 0:1; gam arabik: maltodekstrin çözeltileri) emülsiyonların bileşimi viskozite üzerinde etkili olmuştur.

Tablo 4.12. Emülsiyonların, kaplayıcıların ve çekirdek malzemenin reolojik özellikleri ve modellemesi (Power-law modeli).

| Hazırlanan çözeltiler ve emülsiyonlar | Gam arabik: maltodekstrin | Yağ miktarı (%) | Viskozite mPas | Power-Law modelin faktörleri |       |
|---------------------------------------|---------------------------|-----------------|----------------|------------------------------|-------|
|                                       |                           |                 |                | K                            | n     |
| 1                                     | 0: 100                    | 5               | 7.51 ± 0.37    | 0.0069                       | 1.019 |
| 2                                     | 0: 100                    | 7.5             | 8.22 ± 0.26    | 0.0072                       | 1.029 |
| 3                                     | 0: 100                    | 7.5             | 7.99 ± 0.11    | 0.0072                       | 1.023 |
| 4                                     | 0: 100                    | 10              | 8.20 ± 0.21    | 0.0075                       | 1.020 |
| 5                                     | 50: 50                    | 5               | 20.63 ± 0.66   | 0.0193                       | 1.016 |
| 6                                     | 50: 50                    | 5               | 20.08 ± 2.23   | 0.0196                       | 1.005 |
| 7                                     | 50: 50                    | 7.5             | 18.29 ± 0.56   | 0.0181                       | 1.001 |
| 8                                     | 50: 50                    | 7.5             | 18.09 ± 2.85   | 0.0184                       | 0.997 |
| 9                                     | 50: 50                    | 7.5             | 20.65 ± 1.24   | 0.0189                       | 1.021 |
| 10                                    | 50: 50                    | 10              | 19.13 ± 1.14   | 0.0213                       | 0.975 |
| 11                                    | 50: 50                    | 10              | 19.31 ± 1.42   | 0.0179                       | 1.018 |
| 12                                    | 100:0                     | 5               | 24.07 ± 2.5    | 0.0238                       | 1.002 |
| 13                                    | 100:0                     | 7.5             | 31.14 ± 0.69   | 0.0300                       | 1.009 |
| 14                                    | 100:0                     | 7.5             | 27.67 ± 3.31   | 0.0289                       | 0.991 |
| 15                                    | 100:0                     | 10              | 28.82 ± 2.77   | 0.0276                       | 1.010 |
| Yağ (likopen içeren)                  | 0                         | 100             | 39.61 ± 2.17   | 0.0548                       | 0.922 |
| Maltodekstrin, %20                    | 0:100                     | 0               | 6.74 ± 0.2     | 0.0071                       | 0.989 |
| Gam arabik , %20                      | 100:0                     | 0               | 25.78 ± 5.55   | 0.0318                       | 0.963 |
| Gam arabik :Maltodekstrin, %20        | 50:50                     | 0               | 16.96 ± 0.57   | 0.0213                       | 0.948 |

\*K : kıvam indeksi (Pa.s<sup>n</sup>); n:akış davranış indeksi

Tüm emülsiyonlar ve kontrollerin deneysel verileri, yüksek korelasyonu ifade eden Power-law modeliyle ( $> 0.99$ ) yüksek bir uyum göstermiştir. Akış davranış indeksi (n), tüm noktalarda 1'e yakın bulunmuştur. Bu, emülsiyonların Newton akışkanlarının karakteristik davranışına sahip olduğunu göstermektedir (Ansari vd., 2020). Ayrıca kıvam indeksi (K) de, aynı modelden hesaplanmıştır. K indeksi, aynı görünür viskozite eğilimi sergilemiştir. 100% Maltodekstrin emülsiyonlarında düşük değerler verirken, % 100 gam arabik emülsiyonunda yüksek değerler gözlenmiştir. gam arabik ilavesi, emülsiyonların viskozitesini artırmıştır.

Likopen içeren fındık yağının K indeksi yüksek olup yağ ilavesi, emülsiyonu viskoz hale getirmiştir. Yağ ilavesinin emülsiyonu viskoz hale getirebileceği ve polimerler arasında çeşitli etkileşimler meydana gelebileceği Pérez-Masiá vd. (2015) tarafından da bildirilmiştir. Gam arabik, elektrostatik itme özelliğiyle stabilize edici bir emülsiyon faktörü ve kıvamlaştırıcı etkisiyle de iyi bir viskozite artırıcıdır (Shariffa vd., 2016). Yüksek viskoziteye sahip emülsiyonlar, işlemede birleşmeyi (*coalescence*) azaltmada etkilidir. Ancak endüstride veya laboratuvar ölçeğinde uygulanabilir

olabilmesi için viskozite belli sınırlarda tutulmalıdır (Wanyi vd., 2020). Bu nedenle, çalışmada yüksek konsantrasyondan (>% 20) kaçınılmıştır.

#### 4.3.2. Optimizasyon

Emülsiyonların püskürterek kurutulmasında optimizasyon koşullarının seçimi için ön denemeler yapılmış, karşılaşılabilecek sorunlar nedeniyle çok yüksek sıcaklık ve yüksek kuru maddeden (>%20) kaçınılmıştır. Kaplayıcı olarak yaygın kullanılan gam arabik ve maltodekstrin tercih edilmiştir. Üç bağımsız değişken gam arabik/maltodekstrin, giriş sıcaklığı ve yağ içeriği için sırasıyla, %0-100, 150-190 °C ve % 5-10 (kuru madde) aralıkları seçilmiş ve toplam 15 nokta çalışılmıştır (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Toplam ve yüzey likopen, enkapsülasyon yeterliliği ve toz verimi sonuçları.

| N<br>o | X1     | X2  | X3  | Toplam<br>likopen,<br>mg/g | Yüzey<br>likopen,<br>mg/g | Enkapsülasyon<br>yeterliliği,% | Toz<br>verimi,<br>% |
|--------|--------|-----|-----|----------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------|
| 1      | 0: 100 | 5   | 170 | 2.83±0.07                  | 2.20±0.47                 | 22.18±16.52                    | 57.76               |
| 2      | 0: 100 | 7.5 | 150 | 4.29±0.14                  | 2.91±0.16                 | 32.12±3.71                     | 51.63               |
| 3      | 0: 100 | 7.5 | 190 | 3.32±0.04                  | 2.40±0.24                 | 27.73±7.31                     | 50.99               |
| 4      | 0: 100 | 10  | 170 | 5.14±0.43                  | 3.73±0.06                 | 27.37±1.07                     | 48.60               |
| 5      | 50: 50 | 5   | 150 | 4.24±0.15                  | 0.44±0.02                 | 89.69±0.39                     | 59.39               |
| 6      | 50: 50 | 5   | 190 | 3.59±0.36                  | 0.84±0.08                 | 76.55±2.21                     | 60.85               |
| 7      | 50: 50 | 7.5 | 170 | 5.48±0.43                  | 1.17±0.01                 | 78.71±0.17                     | 59.13               |
| 8      | 50: 50 | 7.5 | 170 | 5.13±1.04                  | 1.03±0.07                 | 79.83±1.42                     | 65.79               |
| 9      | 50: 50 | 7.5 | 170 | 5.88±0.72                  | 1.04±0.08                 | 82.24±1.41                     | 66.94               |
| 10     | 50: 50 | 10  | 150 | 8.49±1.02                  | 1.57±0.13                 | 81.54±1.56                     | 61.94               |
| 11     | 50: 50 | 10  | 190 | 6.01±0.58                  | 1.54±0.09                 | 74.42±1.45                     | 64.34               |
| 12     | 100:0  | 5   | 170 | 2.94±0.09                  | 0.51±0.12                 | 82.66±4.02                     | 60.69               |
| 13     | 100:0  | 7.5 | 150 | 4.41±0.52                  | 0.94±0.14                 | 78.76±3.23                     | 53.02               |
| 14     | 100:0  | 7.5 | 190 | 4.21±0.36                  | 0.99±0.18                 | 76.53±4.25                     | 56.11               |
| 15     | 100:0  | 10  | 170 | 5.41±0.08                  | 1.71±0.23                 | 68.36±4.20                     | 46.36               |

X1, Gam arabik/ Maltodekstrin, % ; X2, Yağ miktarı; X3, sıcaklık

Görüldüğü gibi, toplam likopen 2.83 ile 8.49 mg/g, yüzey likopen 0.44 ile 2.91 mg/g arasında belirlenmiştir. Başarılı bir enkapsülasyonun göstergesi olan enkapsülasyon yeterliliği (EE%) %22.18 ile 89.69 arasında kaydedilmiştir. %100 maltodekstrin içeren noktalarda (1, 2, 3, ve 4) en düşük enkapsülasyon yeterliliği değerleri hesaplanmıştır. %50 ve %100 gam arabik içeren emülsiyonlarda ise bu değer % 68'in üzerinde saptanmıştır. Toz verimi genellikle 50:50 maltodekstrin gam arabik oranına sahip olanlarda yüksek bulunmuştur.

Bağımsız değişkenlerin, yanıtlar üzerindeki etkisine ait ANOVA sonuçları Tablo 4.14 ve Tablo 4.15’de verilmiştir.

Tablo 4.14. Toplam ve yüzey likopen için varyans analiz (ANOVA) sonuçları.

|                               | Toplam Likopen mg/g (T. L) |        |        |          |           | Yüzey Likopen mg/g (Y.L) |          |          |           |
|-------------------------------|----------------------------|--------|--------|----------|-----------|--------------------------|----------|----------|-----------|
| Kaynak                        | S.D                        | K.T    | K.O    | F Değeri | p- Değeri | K.T                      | K.O      | F Değeri | p- Değeri |
| Model                         | 9                          | 28.07  | 3.12   | 12.38    | 0.0064    | 11.75                    | 1.31     | 30.47    | 0.0008    |
| X <sub>1</sub>                | 1                          | 0.24   | 0.24   | 0.97     | 0.3707    | 6.30                     | 6.30     | 147.05   | < 0.0001  |
| X <sub>2</sub>                | 1                          | 16.35  | 16.35  | 64.86    | 0.0005    | 2.59                     | 2.59     | 60.51    | 0.0006    |
| X <sub>3</sub>                | 1                          | 2.31   | 2.31   | 9.18     | 0.0291    | 0.0008                   | 0.0008   | 0.020    | 0.8921    |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 1                          | 0.0068 | 0.0068 | 0.027    | 0.8752    | 0.026                    | 0.026    | 0.62     | 0.4674    |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 1                          | 0.14   | 0.14   | 0.57     | 0.4827    | 0.078                    | 0.078    | 1.83     | 0.2344    |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 1                          | 0.84   | 0.84   | 3.34     | 0.1272    | 0.047                    | 0.047    | 1.11     | 0.3409    |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 1                          | 8.01   | 8.01   | 31.77    | 0.0024    | 2.57                     | 2.57     | 60.07    | 0.0006    |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 1                          | 0.011  | 0.011  | 0.042    | 0.8458    | 0.055                    | 0.055    | 1.28     | 0.3085    |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 1                          | 0.0036 | 0.0036 | 0.014    | 0.9095    | 0.043                    | 0.043    | 1.02     | 0.3598    |
| Kalıntı                       | 5                          | 1.26   | 0.25   |          |           | 0.21                     | 0.043    |          |           |
| Model uygunsuzluğu            | 3                          | 0.98   | 0.33   | 2.29     | 0.3187    | 0.20                     | 0.000068 | 12.35    | 0.0759    |
| Saf Hata                      | 2                          | 0.28   | 0.14   |          |           | 0.011                    |          |          |           |
| Toplam                        | 14                         | 29.33  |        |          |           | 11.96                    |          |          |           |
| R <sup>2</sup>                | 0.9570                     |        |        |          |           | 0.9821                   |          |          |           |
| Düz.R <sup>2</sup>            | 0.8797                     |        |        |          |           | 0.9499                   |          |          |           |
| Tahminl . R <sup>2</sup>      | 0.4460                     |        |        |          |           | 0.7261                   |          |          |           |

X<sub>1</sub>, Gam Arabik /Maltodekstrin, X<sub>2</sub>,Yağ miktarı, X<sub>3</sub>,Sıcaklık

Toplam likopen için oluşturulan modelin 12.38 F-değeri ile önemli (p<0.05), model uygunsuzluğunun 2.29 F değeri ile önemsiz (p>0.05); yüzey likopen değerinin 30.47 F-değeri ile önemli (p<0.05), model uygunsuzluğunun önemsiz (p>0.05) olduğu belirlenmiştir. ANOVA analiz sonuçlarına göre, toplam likopen üzerine yağ miktarı ve kurutma sıcaklığı ile kaplayıcıların kuadratik etkisi önemli (p<0.05); yüzey likopen üzerine kaplayıcı oranı ve yağ miktarı önemli (p<0.05) etki yaptığı görülmektedir.

Tablo 4.15. Enkapsülasyon yeterliliği ve toz verimi için varyans analiz (ANOVA) sonuçları.

|        | Enkapsülasyon Yeterliliği % |         |        |          |          | Toz verimi % |       |          |          |
|--------|-----------------------------|---------|--------|----------|----------|--------------|-------|----------|----------|
| Kaynak | S.D                         | K.T     | K.O    | F Değeri | p-Değeri | K.T          | K.O   | F Değeri | p-Değeri |
| Model  | 9                           | 8140.28 | 904.48 | 131.27   | < 0.0001 | 405.07       | 45.01 | 1.51     | 0.3387   |

|                               |    |         |         |        |        |         |        |       |        |
|-------------------------------|----|---------|---------|--------|--------|---------|--------|-------|--------|
| X <sub>1</sub>                | 1  | 4847.10 | 4847.10 | 703.46 | <      | 6.48    | 6.48   | 0.22  | 0.6606 |
|                               |    |         |         |        | 0.0001 |         |        |       |        |
| X <sub>2</sub>                | 1  | 47.02   | 47.02   | 6.82   | 0.0475 | 38.06   | 38.06  | 1.28  | 0.3098 |
| X <sub>3</sub>                | 1  | 90.37   | 90.37   | 13.12  | 0.0152 | 4.98    | 4.98   | 0.17  | 0.6997 |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 1  | 94.97   | 94.97   | 13.78  | 0.0138 | 6.68    | 6.68   | 0.22  | 0.6558 |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 1  | 1.17    | 1.17    | 0.17   | 0.6975 | 3.48    | 3.48   | 0.12  | 0.7465 |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 1  | 9.01    | 9.01    | 1.31   | 0.3045 | 0.22    | 0.22   | 0.007 | 0.9347 |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 1  | 2986.33 | 2986.33 | 433.41 | <      | 343.60  | 343.60 | 11.53 | 0.0194 |
|                               |    |         |         |        | 0.0001 |         |        |       |        |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 1  | 10.37   | 10.37   | 1.50   | 0.2746 | 3.36    | 3.36   | 0.11  | 0.7506 |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 1  | 14.29   | 14.29   | 2.07   | 0.2093 | 6.92    | 6.92   | 0.23  | 0.6502 |
| Kalıntı                       | 5  | 34.45   | 6.89    |        |        | 149.04  | 29.81  |       |        |
| Model                         | 3  | 27.93   | 9.31    | 2.86   | 0.2699 | 113.49  | 37.83  | 2.13  | 0.3356 |
| uygunsuzluğu                  |    |         |         |        |        |         |        |       |        |
| Saf Hata                      | 2  | 6.52    | 3.26    |        |        | 35.56   | 17.78  |       |        |
| Toplam                        | 14 | 8174.73 |         |        |        | 554.11  |        |       |        |
| R <sup>2</sup>                |    | 0.9958  |         |        |        | 0.7310  |        |       |        |
| Düz.R <sup>2</sup>            |    | 0.9882  |         |        |        | 0.2469  |        |       |        |
| Tahminl . R <sup>2</sup>      |    | 0.9435  |         |        |        | -2.4213 |        |       |        |

X<sub>1</sub>,Gam Arabik /Maltodekstrin, X<sub>2</sub>,Yağ miktarı, X<sub>3</sub>,Sıcaklık

Enkapsülasyon yeterliliği için oluşturulan modelin 131.27 F değeri ile önemli ( $p<0.05$ ), model uygunsuzluğunun 2.86 F değeri ile önemsiz ( $p>0.05$ ); toz verimi için değeri F değeri 1.51 ile önemsiz ( $p>0.05$ ), model uygunsuzluğunun da önemsiz ( $p>0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. ANOVA analiz sonuçlarına göre enkapsülasyon yeterliliği üzerine kaplayıcı oranı, yağ miktarı, kurutma sıcaklığı ve kaplayıcı oranı yağ miktarının interaksyonu ile kaplayıcıların kuadratik etkisi önemli ( $p<0.05$ ); toz verimi üzerine sadece kaplayıcı oranının kuadratik etkisi önemli ( $p<0.05$ ) etki yaptığı görülmektedir. Model uygunsuzluğu değerinin önemli olması, oluşturulan modelin anlamlı olmadığını, dolayısıyla deneysel verinin modelin matematiksel formu tarafından temsil edilemediğini ifade etmektedir. Bu açıdan bakıldığında toz veriminin sonuçları modele uygun değildir. Toplam likopen, yüzey likopen ve enkapsülasyon yeterliliğinde ise önemsiz çıkmış, yani modele uygun bulunmuştur. Kaplamada toplam likopen yanında yüzey likopenin düşük olması dolayısıyla bu ikisinin ortak göstergesi olan enkapsülasyon yeterliliğinin yüksek olması, enkapsülasyon başarısı açısından son derece önemlidir. Bu nedenle 3 yanıt yerine, yüzey ve toplam likopenden hesaplanan enkapsülasyon yeterliliği üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi dikkate alınmış ve optimum noktanın tespitinde de bu tek parametre kullanılmıştır.

Enkapsülasyon yeterliliğine ait değerlerinin model uygunluğu istatistik sonuçları Tablo 4.16' da verilmiştir.

Tablo 4.16. Enkapsülasyon yeterliliği (EE%), toplam likopen (T.L) ve yüzey likopen (Y.L) için model uygunluğu istatistikleri (p <0.05).

| Uyumsuzluk testleri |                  |              |          |              |              |               | Model Özet İstatistikleri |                |                    |               |
|---------------------|------------------|--------------|----------|--------------|--------------|---------------|---------------------------|----------------|--------------------|---------------|
| Kaynak              |                  | K.T          | S.D      | K.O          | F Değ.       | p- Değ.       | p- Değ.                   | R <sup>2</sup> | Düz.R <sup>2</sup> | PRESS         |
| <b>EE%</b>          | Linear           | 3183.73      | 9        | 353.75       | 108.55       | 0.0092        | -                         | 0.6097         | 0.5033             | 6153.92       |
|                     | 2FI              | 3078.57      | 6        | 513.10       | 157.45       | 0.0063        | -                         | 0.6226         | 0.3396             | 13577.94      |
|                     | <u>Kuadratik</u> | <u>27.93</u> | <u>3</u> | <u>9.31</u>  | <u>2.86</u>  | <u>0.2699</u> | <u>&lt;0.0001</u>         | <u>0.9958</u>  | <u>0.9882</u>      | <u>461.61</u> |
| <b>T. L</b>         | Linear           | 10.15        | 9        | 1.13         | 7.93         | 0.1170        | 0.0080                    | 0.6444         | 0.5475             | 20.42         |
|                     | 2FI              | 9.15         | 6        | 1.53         | 10.72        | 0.0877        | 0.8380                    | 0.6783         | 0.4370             | 42.20         |
|                     | <u>Kuadratik</u> | <u>0.98</u>  | <u>3</u> | <u>0.33</u>  | <u>2.29</u>  | <u>0.3187</u> | <u>0.0126</u>             | <u>0.9570</u>  | <u>0.8797</u>      | <u>16.25</u>  |
| <b>Y. L</b>         | Linear           | 3.06         | 9        | 0.34         | 61.93        | 0.0160        | 0.0014                    | 0.7434         | 0.6735             | 5.95          |
|                     | 2FI              | 2.91         | 6        | 0.48         | 88.27        | 0.0112        | 0.9338                    | 0.7562         | 0.5733             | 12.92         |
|                     | <u>Kuadratik</u> | <u>0.20</u>  | <u>3</u> | <u>0.068</u> | <u>12.35</u> | <u>0.0759</u> | <u>0.0029</u>             | <u>0.9821</u>  | <u>0.9499</u>      | <u>3.28</u>   |

Tablo 4.16' da yer alan enkapsülasyon yeterliliği, toplam ve yüzey likopene ait modeller uygunluğu istatistik değerleri incelenecek olursa; analiz sonucunda bulunan R<sup>2</sup> (0.9958, 0.9570 ve 0.9821) değerlerinin en yüksek kuadratik modelde olduğu görülmektedir. Düzeltilmiş R<sup>2</sup> (0.9882, 0.8797 ve 0.9499) değerleri ise modelin uygunluğunun anlamlı olduğunu diğer ifadeyle enkapsülasyon yeterliliği, toplam ve yüzey likopenin tahmin edilen değerlerinin deneysel verilere çok yakın olduğunu göstermektedir. En düşük PRESS değeri de kuadratik modelin yanıt değerleri tatmin edici bir şekilde tahmin edebileceğini doğrulamıştır.

Daha öncede ifade edildiği gibi; enkapsülasyon yeterliliği ( EE%) için tüm değişkenlerin (X<sub>1</sub> gam arabik/maltodekstrin; X<sub>2</sub> yağ içeriği; X<sub>3</sub> sıcaklık) anlamlı olduğu görülmektedir (p <0.05). Yine X<sub>1</sub><sup>2</sup> ve X<sub>1</sub>X<sub>2</sub> interaksiyonu da önemlidir. İstatistik analiz sonucu dikkate alınarak elde edilen ikinci dereceden polinomiyal denkleme ait gerçek değişkenler cinsinden regresyon eşitliği aşağıdaki gibi ifade edilebilir;

$$EE\% = 80.26 + 24.61 X_1 - 2.42 X_2 - 3.36 X_3 - 4.87 X_1 X_2 + 0.54 X_1 X_3 + 1.50 X_2 X_3 - 28.44 X_1^2 - 1.68 X_2^2 + 1.97 X_3^2 \quad (3.3)$$

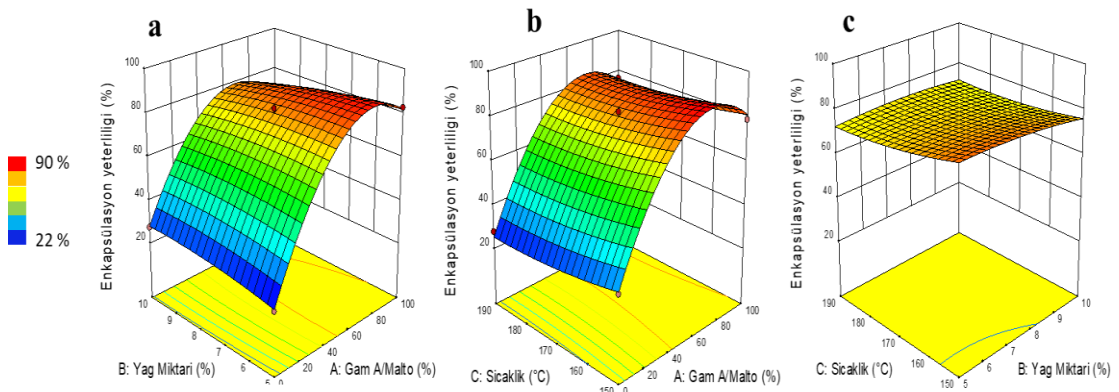
Enkapsülasyon yeterliliği, toplam likopen ve yüzey likopen üzerine gam arabik: maltodekstrin oranı, yağ içeriği ve sıcaklığın etkisini Şekil 4.8 daha iyi göstermektedir.

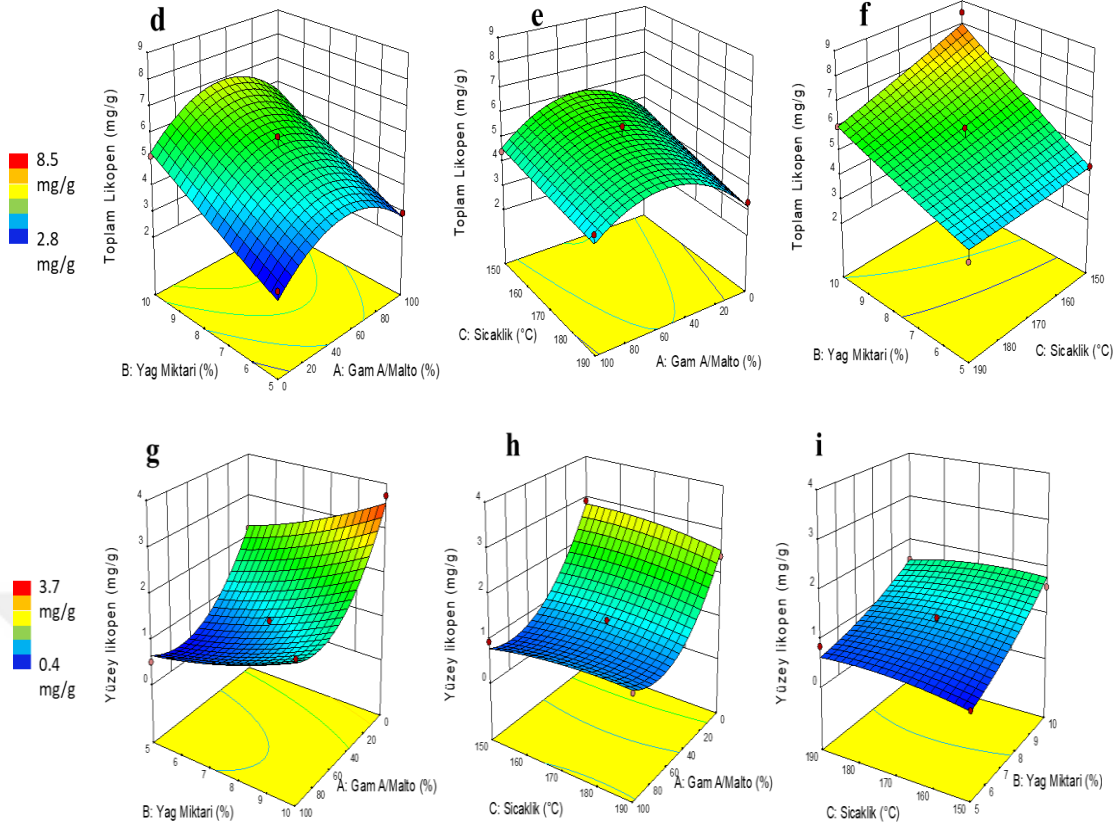
Şekil 4.8 (a, d ve g )'deki yüzey yanıt grafikleri incelendiğinde; sıcaklık sabit tutulduğunda, maltodekstrin ile hazırlanan tozların düşük enkapsülasyon yeterliliğine

sahip olduğu görülmüştür. Çözeltideki gam arabik içeriğini yükseltildiğinde, enkapsülasyon yeterliliği % 89'a kadar önemli bir artış göstermiştir. Yağ içeriğinin değişmesi, kaplayıcıların etkilerine kıyasla daha az etkili olmuştur. Toplam likopen ise farklı bir eğilim göstermiş, yağ içeriğinin yükselmesi, kaplayıcıların etkilerine daha etkili bulunmuştur. Kaplayıcılar eşit oranlara yakın olduğunda en yüksek likopen değerlerine ulaşılmıştır. Yüzey likopen değerleri gam arabik yükselmesi ile maksimum rakamlar vermiştir. Yağ içeriğinin yükselmesiyle ile hafif bir düşüş görülmüştür. Hatırlayalım ki, yüzey likopen artığında enkapsülasyon yeterliliğinin üzerine negatif bir korrelasyon vardır. Likopen enkapsülasyonunda, yüzey likopen toplam likopen'e göre ne kadar düşük ise enkapsülasyon yeterliliği de o kadar yüksek olacaktır.

Şekil 4.8 (b, e ve h)'deki grafikleri incelendiğinde; yağ miktarı sabit tutulduğunda, enkapsülasyon yeterliliği, toplam likopen ve yüzey likopen değerlerinde kaplayıcı oranı (gam arabik/maltodekstrin) sıcaklıktan daha etkili olmuştur. En yüksek enkapsülasyon yeterliliği değerleri 170 °C'nin altındaki sıcaklıklarda olmuştur.

Şekil 4.8 (c, f ve i)'deki grafikler incelendiğinde; kaplayıcı oranları sabit tutulduğunda ise toplam likopen değerlerinde yağ miktarı (gam arabik/maltodekstrin) sıcaklıktan daha etkili olmuştur. Maksimum değerler, %10 yağ miktarı ve 170 °C'nin altındaki sıcaklıklarda bulunmuştur. Enkapsülasyon yeterliliği ve yüzey likopen değerleri üzerine sıcaklık ve yağ miktarının etkisi ihmal edilebilecek seviyededir.





Şekil 4.8. Bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak enkapsülasyon yeterliliğinin, toplam ve yüzey likopen yanıt yüzey grafikleri a, d, g) kaplayıcı oran ve yağın miktarı b, e, h) kaplayıcı oran ve sıcaklığın, c, f, i ) sıcaklık ve yağ miktarının etkisi.

Genel olarak, enkapsülasyonda kullanılan bağımsız değişkenlerin varyasyonu, enkapsülasyon yeterliliğini çok değiştirmiştir. Elde edilen sonuçlar, enkapsülasyon faktörlerinin etkisi ve enkapsülasyonun başarısı, yapılan birçok çalışmayla uyumlu bulunmuştur. Gam arabik, maltodekstrin ile karşılaştırıldığında daha yüksek emülsifiye etme kapasitesine sahiptir. Sulu fazda (suda yağ) mikro damlacığı (hidrofobik çekirdek) stabilize etme yeteneğindedirler. Tek başına gam arabik kullanımı, diğer polimerlerle karışıma kıyasla daha az verimlidir. Birçok çalışmada, likopen veya likopen içeren sistemleri kapsüllemede gam arabik iki hatta üçlü karışımlar şeklinde uygulanmıştır. Peynir altı suyu proteini (Kha vd., 2014; Tuyen vd., 2014), sakaroz (Nunes ve Mercadante, 2007), maltodekstrin (Montiel-Ventura vd., 2018; Turchiuli vd., 2005) maltodekstrin ve inülin (Turchiuli vd., 2014) gam arabik ile birlikte kullanılan kaplayıcılardandır.

Kha vd. (2014), karotenoid açısından zengin gac yağının farklı kaplama malzemeleriyle (peynir altı suyu proteini ve gam arabik) kapsüllemişlerdir. Kaplayıcıların miktarının, çekirdek malzemeyi kapsüllemek için yeterli olması gerektiğini aksi takdirde, enkapsülasyon yeterliliğinin düşük olacağını, yağ içeriğinin yükleme kapasitesini etkileyeceğini bildirmişlerdir. Aynı kaplayıcılar ve çekirdek malzemesi ile yapılan başka bir çalışmada (Tuyen vd., 2014), enkapsülasyon yeterliliğinde giriş ve çıkış sıcaklıklarının önemli olduğu, kurutma için optimum giriş ve çıkış sıcaklığının 154 °C ve 80 °C olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyumludur.

Chuyen vd. (2019), püskürtmeli kurutma koşullarının (giriş sıcaklığı ve besleme hızı) ve yağın duvar malzemesine oranının karotenoidlerin tutulması üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu faktörlerin, nihai tozdaki toplam karotenoidlerin ve antioksidan aktivitenin tutulmasını önemli ölçüde etkili olduğunu bulmuşlardır. Daha iyi kapsülleme için en uygun koşulları, 160 °C'de 180 mL/saat besleme hızı kullanılarak 3:10 yağ: duvar malzemesi oranı olarak kaydetmişlerdir.

#### **4.3.3. Optimum Kapsülleme Koşulu ve Modelin Doğrulanması**

Püskürtmeli kurutma yöntemi ile yapılan kurutma koşullarının optimizasyonunda, elde edilen tozların enkapsülasyon yeterliliğine ait yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki anlamlı bulunmuş ve oluşturulan modele uyum sağlamıştır. Tozların en yüksek enkapsülasyon yeterliliği sağlayacak koşullar optimum kurutma koşulları olarak belirlenmiştir. İstenilirlik fonksiyonundan yola çıkılarak elde edilen noktalardan istenilirliği en yüksek olanının değeri 1.00'dır. Bu en yüksek değerler arasından programın ilk sırada verdiği nokta, optimum nokta olarak seçilmiştir. Buna göre optimum kurutma koşulları; 155 °C giriş sıcaklığı, % 70 gam arabik maltodekstrin oranı ve % 5.4 yağ içeriği şeklinde bulunmuştur. Bu şartlarda enkapsülasyon yeterliliği % 92.35 olarak tahmin edilmiştir. Bu değişkenler deneysel olarak uygulandığında, likopenin enkapsülasyon yeterliliği % 89 olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi, deneysel veriler tahmin edilen değerlere yakın bulunmuştur. Bu nedenle, bu model doğrulanmış ve fındık yağına katılan likopenin kapsüllemesi için uygun olduğu kararına varılmıştır.

#### 4.3.4. Optimizasyon İçin Hazırlanan Tozların Özellikleri

Optimizasyon amacıyla hazırlanan tozların bazı fiziksel özellikleri Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Tozların fiziksel özellikleri.

| No | Nem, %      | Su aktivitesi | Çözünürlük % | Yoğunluk, g/cm <sup>3</sup> | Carr İndeksi, % |
|----|-------------|---------------|--------------|-----------------------------|-----------------|
| 1  | 2.09 ± 0.43 | 0.170 ± 0.002 | 90.42 ± 2.93 | 0.288 ± 0.000               | 41.50           |
| 2  | 2.30 ± 0.13 | 0.192 ± 0.002 | 91.32 ± 4.28 | 0.286 ± 0.003               | 42.00           |
| 3  | 2.43 ± 0.16 | 0.207 ± 0.002 | 92.95 ± 3.29 | 0.282 ± 0.003               | 40.50           |
| 4  | 2.45 ± 0.36 | 0.186 ± 0.008 | 93.65 ± 3.21 | 0.280 ± 0.001               | 40.50           |
| 5  | 1.21 ± 0.18 | 0.125 ± 0.001 | 96.50 ± 3.21 | 0.286 ± 0.004               | 38.00           |
| 6  | 0.85 ± 0.44 | 0.119 ± 0.006 | 88.58 ± 5.62 | 0.267 ± 0.007               | 41.00           |
| 7  | 0.61 ± 0.15 | 0.097 ± 0.001 | 92.85 ± 2.49 | 0.285 ± 0.002               | 39.00           |
| 8  | 0.57 ± 0.11 | 0.073 ± 0.002 | 96.20 ± 2.17 | 0.244 ± 0.002               | 39.50           |
| 9  | 1.55 ± 0.16 | 0.127 ± 0.001 | 95.12 ± 1.00 | 0.263 ± 0.003               | 40.50           |
| 10 | 1.59 ± 0.27 | 0.124 ± 0.002 | 85.60 ± 6.81 | 0.258 ± 0.004               | 40.50           |
| 11 | 0.51 ± 0.25 | 0.081 ± 0.006 | 90.42 ± 2.84 | 0.258 ± 0.009               | 38.00           |
| 12 | 0.58 ± 0.12 | 0.075 ± 0.001 | 94.60 ± 2.01 | 0.275 ± 0.004               | 37.50           |
| 13 | 3.61 ± 0.22 | 0.202 ± 0.010 | 91.40 ± 1.61 | 0.267 ± 0.002               | 37.00           |
| 14 | 2.32 ± 0.26 | 0.155 ± 0.009 | 93.15 ± 1.72 | 0.250 ± 0.002               | 38.50           |
| 15 | 3.21 ± 0.10 | 0.200 ± 0.021 | 92.85 ± 2.35 | 0.258 ± 0.000               | 37.50           |

##### 4.3.4.1. Nem ve Su Aktivitesi

Kapsüllenmiş tozun nem içeriği % 0.51 ile % 3.61 arasında değişmiştir. Maltodekstrin (% 100) veya gam arabik (% 100) ile kapsüllenmiş tozların nem içeriği, genel olarak daha yüksek bulunmuş, buna karşın, gam arabik:maltodekstrin karışımlarıyla hazırlananların nemleri daha düşük saptanmıştır. Sonuçlar, Cano-Higuera vd. (2015a) tarafından oleoresin kapsüllemesinde saptadıklarıyla uyumludur. Araştırmacılar, maltodekstrin, gam arabik ve modifiye nişastanın ikili ve üçlü karışımlarını kullandıkları çalışmada, nem miktarlarını % 0.84 ile % 4.81 arasında saptamışlardır.

Su aktivitesi, en düşük 50:50 maltodekstrin: gam arabik karışımında bulunmuştur. Düşük su aktivitesi, tozlara mikrobiyolojik açıdan stabilite sağlamaktadır (Turchiuli vd., 2005).

#### 4.3.4.2. Çözünürlük

Tozlarda çözünürlük değeri, % 85.6 ile % 96.2 arasında değişmiştir. En düşük çözünürlük değeri 50:50 gam arabik: maltodekstrin içeren, % 10 yağ içeren ve 150 °C'de kurutulanlarda bulunmuştur. Yüksek yağ içeriği ve düşük sıcaklık muhtemelen çözünürlüğü düşürmüştür. En yüksek çözünürlük değeri ise 50:50 gam arabik: maltodekstrin, % 7.5 yağ içeren ve 170 °C'de kurutulanlarda bulunmuştur. Literatürde lipofilik çekirdek içerenlerde benzer sonuçlar bulunmuştur (Cano-Higuera vd., 2015a).

#### 4.3.4.3. Yoğunluk ve Carr indeksi

Kapsüllenmiş tozların yığın yoğunluğu ve Carr indeksi sırasıyla 0.244 ile 0.288 g/cm<sup>3</sup> ve % 37 ile % 42 arasında değişmiştir. Genel olarak, %100 maltodekstrin ile kaplananların yığın yoğunluğu en yüksek olmuş, % 100 gam arabikle kaplananlar ise en düşük değerleri göstermiştir. Bununla birlikte, karışık kaplayıcılarla (1:1) ile hazırlananlarda sonuçlar değişken olmuştur. Bu değişkenlik, yağ içeriğinden ve giriş sıcaklığından kaynaklanmış olabilir.

Gac yağ kapsülünün yığın yoğunluğu 0.23 ila 0.24 g/cm<sup>3</sup> arasında değişmiş (Tuyen vd., 2014) bizim değerlerimizle yakın bulunmuştur. Püskürtmeli kurutucunun giriş sıcaklığının yığın yoğunluğu üzerinde hafif bir etkisi kaydedilmiş, sıcaklık ne kadar yüksekse yoğunluk da o kadar düşük olmuştur. Bu aslında, oluşan gözenekli yapı ile ilişkilendirilebilir (Tuyen vd., 2014).

Yığın ve sıkıştırılmış yoğunluktan hesaplanan Carr indeksi, tozun akışkanlığını göstermektedir. Carr indeksi tüm örneklerde yaklaşık % 40 olmuştur. Bu sonuçlar, tozların akışkanlığının iyi olmadığını göstermektedir. Tabi bu durum kısmen akışkan yatak aglomerasyonuna tabi tutulmasıyla giderilebilir. Böylece kapsüllerin yoğunluğunu azaltabilir ve akışkanlığını artırabilir (Turchiuli vd., 2014).

#### 4.3.4.4. Tozların Antioksidan Aktivitesi

Tozların DPPH ve ABTS serbest radikallerini giderme etkileri Tablo 4.18'de verilmiştir.

Tablo 4.18. Tozların antioksidan aktiviteleri.

| No | DPPH mM TE/ g | ABTS mM TE/g |
|----|---------------|--------------|
| 1  | 0.35 ± 0.04   | 0.86 ± 0.11  |
| 2  | 0.34 ± 0.18   | 0.98 ± 0.21  |

|    |             |             |
|----|-------------|-------------|
| 3  | 0.38 ± 0.19 | 0.95 ± 0.03 |
| 4  | 0.39 ± 0.20 | 1.01 ± 0.05 |
| 5  | 0.38 ± 0.19 | 1.40 ± 0.16 |
| 6  | 0.42 ± 0.21 | 1.20 ± 0.05 |
| 7  | 0.37 ± 0.09 | 1.42 ± 0.07 |
| 8  | 0.47 ± 0.24 | 1.44 ± 0.21 |
| 9  | 0.49 ± 0.26 | 1.40 ± 0.06 |
| 10 | 0.57 ± 0.16 | 1.81 ± 0.12 |
| 11 | 0.54 ± 0.05 | 1.71 ± 0.23 |
| 12 | 0.39 ± 0.20 | 0.91 ± 0.09 |
| 13 | 0.17 ± 0.10 | 1.31 ± 0.12 |
| 14 | 0.40 ± 0.20 | 1.39 ± 0.17 |
| 15 | 0.13 ± 0.07 | 1.21 ± 0.18 |

Tozların DPPH ve ABTS serbest radikallerini giderme etkileri sırasıyla 0.86 ile 1.81 ve 0.13 ile 0.57 mM/g arasında değişmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değerleri karışık kaplayıcılarla kaplanan ve yağ miktarı en yüksek tozlarda (10 ve 11) bulunmuştur. Bu tozların yüksek ABTS aktivitesi, daha fazla likopen içeren yüksek yağ içeriği ile ilişkilendirilebilir. Önceki çalışmalarda da, çekirdek malzemedeki likopen veya karotenoid miktarındaki artış, kapsüllerin antioksidan aktivitesindeki artışa sebep olmuştur (Chuyen vd., 2019; Souza vd., 2018).

#### 4.3.5. Optimum Noktada Üretilen Tozların Özellikleri

##### 4.3.5.1. Reolojik Özellikler

Optimum koşullar için hazırlanan emülsiyonda kaydedilen reolojik özellikler Tablo 4.19'da verilmiştir. Görünür viskozite (17.05 mPas) ve kıvam indeksi (0.017 Pa.sn), daha önce deneysel optimizasyon noktalarında (Tablo 4.12) elde edilen veriler aralığındadır. Daha önce bulunduğu gibi, 30:70 kombinasyonu, 50:50 maltodekstrin ve gam arabik'in veridikleri orta viskozite ve kıvam indeksinin değerlerine çok yakın belirlenmiştir.

Tablo 4.19. Optimum noktadaki emülsiyonun reolojik özellikleri ve modellenmesi.

| Power-Law modeli |               | Arrhenius modeli        |               |
|------------------|---------------|-------------------------|---------------|
| Viskozite, mPas  | 17.05 ± 0.32  | Kt                      | 21.79 ± 0.09  |
| K, Pa.sn         | 0.017 ± 0.000 | E <sub>a</sub> , KJ/mol | -10.84 ± 0.05 |
| n                | 1.005         | R <sup>2</sup>          | 0.8581        |
| R <sup>2</sup>   | 0.999         |                         |               |

K, kıvam indeksi; n, akış davranış indeksi; Kt, referans sıcaklıkta kıvam indeksi; E<sub>a</sub>, aktivasyon enerjisi.

Sıcaklığın reolojik özellikler üzerindeki etkisini analiz etmek için, emülsiyon 10 ile 80 °C arasında doğrusal bir sıcaklık artışına tabi tutulmuştur. Viskozitede bir azalma kaydedilmiş ve Arrhenius denklemi ile hesaplanan aktivasyon enerjisi 10.84 kJ/mol olarak bulunmuştur. Sıcaklık arttıkça sıvıların ve viskoz ürünlerin viskozitesi azalmaktadır. Ayrıca aktivasyon enerjisi ne kadar yüksekse, sıcaklığın viskozite üzerindeki etkisi o kadar yüksek olmakta ve sıvılar daha fazla akışkan özellik taşımaktadır (Sengül vd., 2005).

#### 4.3.5.2. Tozların Fiziksel Özellikleri

Validasyon ve püskürtmeli kurutma ile uygun kapsülleme koşullarının seçilmesinden sonra, elde edilen tozun fiziksel ve kimyasal özellikleri saptanmıştır. Ayrıca, kurutmanın kapsülleme kalitesi ve özellikleri üzerindeki etkisini karşılaştırmak için farklı kurutma teknikleri (etüvde, mikrodalgada ve dondurarak kurutma) uygulanmıştır. Farklı tekniklerle elde edilen tozların fiziksel özellikleri ile toz verimi ve likopen alıkonmasını gösteren enkapsülasyon yeterliliği sonuçları Tablo 4.20'da verilmiştir.

Tablo 4.20. Farklı kurutma teknikleri ve optimum noktada üretilen tozların fiziksel özellikleri ile enkapsülasyon yeterliliği.

| Kurutma<br>tekniki | EE, %            | Toz<br>verimi,<br>% | Nem, %          | Su<br>aktivitesi  | Yoğunluk,<br>g/cm <sup>3</sup> | Carr<br>index, % | Çözünü-<br>rlük, % |
|--------------------|------------------|---------------------|-----------------|-------------------|--------------------------------|------------------|--------------------|
| Püskürterek        | 88.94 ±<br>0.59a | 54.01±<br>6.53c     | 2.46 ±<br>0.03b | 0.094 ±<br>0.002c | 0.262 ±<br>0.008d              | 41.67 ±<br>1.86a | 98.6 ±<br>1.64a    |
| Etüv               | 71.12 ±<br>1.89b | 99.02±<br>0.63a     | 6.17 ±<br>0.16a | 0.205 ±<br>0.002a | 0.688 ±<br>0.017a              | 26.50 ±<br>1.00c | 96.3 ±<br>0.75a    |
| Mikrodalga         | 67.72 ±<br>8.24b | 93.53<br>±2.26b     | 6.14 ±<br>0.24a | 0.197 ±<br>0.005b | 0.459 ±<br>0.03b               | 27.00 ±<br>1.67c | 98.6 ±<br>2.42a    |
| Dondurularak       | 37.85 ±<br>3.20c | 91.94<br>±0.37b     | 2.25 ±<br>0.10b | 0.048 ±<br>0.004d | 0.316 ±<br>0.008c              | 30.80 ±<br>1.10b | 89.8 ±<br>3.53b    |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (p> 0.05).

Optimum koşullarda püskürtmeli kurutucuda üretilen tozların enkapsülasyon yeterliliği en yüksek (% 88.94) bulunmuştur. Onu, etüvde kurutma (% 71.12) ve mikrodalgada kurutma (% 67.72) izlemiştir. Dondurarak kurutma, en düşük enkapsülasyon yeterliliği (% 37.85) sergilemiştir. Daha önce ifade edildiği gibi, enkapsülasyon yeterliliği, yüzey likopen içeriği ile yakından ilişkilidir. Yüzey likopen miktarı ne kadar yüksek ise kapsülleme yeterliliği o kadar düşük olmaktadır.

Çalışmada aynı emülsiyon kullanılmasına rağmen, kurutma yönteminin likopeni kapsüllemeye ne kadar önemli olduğu görülmektedir.

Toz verimi sonuçları incelendiğinde, püskürtmeli kurutmanın sonuçlarının (% 54) düşük olduğu görülmektedir. Etüvde kurutma ve ardından sırasıyla mikrodalga ve dondurarak kurutma, yüksek verim sağlamıştır. Toz verimi, geri kazanım ve toplam üretimi etkilerken enkapsülasyon yeterliliğini etkilememektedir. Püskürtmeli kurutucu, birçok bölmeden (kurutma hücresi, siklon ve toplayıcı) oluşur. Besleme ile nihai ürün toplama arasındaki kısa bir süre olmasına rağmen tozun elde edildiği mesafe uzundur. Özellikle ürün yapısına bağlı olarak kurutma hücresine yapışma olması, püskürtmeli kurutmada verimi düşürmektedir. Bu tür kayıplar genellikle farklı kapsülleme malzemeleriyle püskürtmeli kurutma için daha önce de rapor edilmiştir (Cano-Higuera vd., 2015a). Bu tür ürün kaybının azaltılması, aspirasyon ve besleme hızı gibi diğer parametrelerin optimizasyonu ile minimize edilebilmektedir. Aksine, diğer uygulanan kurutma teknikleri, termal, radyasyon ve negatif basınç ile doğrudan suyun kaptan uzaklaştırılmasını sağlayan uygulamadır ve bunlardaki kayıplar, işleme süreciyle de yakından ilgilidir.

Dondurarak ve püskürtmeli kurutma, düşük nemli tozlar elde etmede etkili teknikler olmuşlardır. Öte yandan etüvde ve mikrodalgada kurutma, nem oranının % 6 gibi yüksek tozlar eldesine yol açmıştır. Son iki tekniğin kurutma işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı ağırlık kaybı ile kontrol edilmektedir. Isısal bozulmaları önlemek için üç ardışık ölçümde sabitleme eğilimi olduğunda, kurutmaya son verilmektedir. Su içeriğinin yüksek kalması depolama stabilitesine de etki etmektedir.

Su aktivitesi, su miktarıyla paralellik göstermiş, dondurularak kurutulan tozlar en düşük su aktivitesine ( $a_w=0.048$ ) sahipken, ardından püskürtülerek kurutulan tozlar ( $a_w=0.094$ ) gelmiştir. Etüvde kurutma, en yüksek su aktivitesine sahip tozu üretimine yol açmıştır. Hem su içeriği hem de su aktivitesi, üretilen tozların muhafazası için önemli faktörlerdir. Genel olarak, farklı bozunma yollarını (bakteriyel, oksidatif) azaltmak için düşük su aktivitesine sahip toz üretimi tavsiye edilmektedir.

Yoğunluk, malzemenin özelliklerini ve akışkanlık gibi davranışları incelemek için basit bir fiziksel özelliktir. Farklı kurutma tekniğinin yoğunlukları birbirinden önemli ölçüde farklı bulunmuştur. Etüv, mikrodalga, dondurarak ve püskürtmeli kurutma için sırasıyla yoğunluklar 0.688, 0.459, 0.316 ve 0.262 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit

edilmiştir. Ayrıca, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluklardan çıkarılan Carr indeksi, akışkanlıkta önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Püskürtmeli kurutma, akışkanlığı düşük (% 41.67) tozlar üretilmesine neden olmuş, ardından dondurarak kurutma gelmiştir. Etüvde ve mikrodalgada kurutma sırasıyla % 26.50 ve % 27.00 değerlerinde daha akıcı tozlar elde edilmiştir.

Çözünürlük, püskürtmeyle, etüvde ve mikrodalgada kurutulmuş tozlar için % 96'dan yüksek değerler göstermiştir. Dondurarak kurutulmuşlar, suda çözünürlük açısından en zayıf (% 89.80) olan tozlar olarak tespit edilmiştir.

#### A. Tozların Renk Özellikleri

Farklı tozların renk değerleri Tablo 4.21'de, görünüşleri Şekil 4.9'da verilmiştir. Renk değerlerini karşılaştırmak amacıyla (kontrol grubu) likopen içeren yağ eklemeden sadece optimum noktanın koşullarında kaplayıcılarla tozlar üretilmiş ve onunla karşılaştırılmıştır. Aydınlık yani L\* değeri, püskürtmeyle kurutmanın önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, püskürtmeli kurutmada daha düşük a\* (kırmızılık) ve b\* (sarılık) değerleri elde edilmiştir.

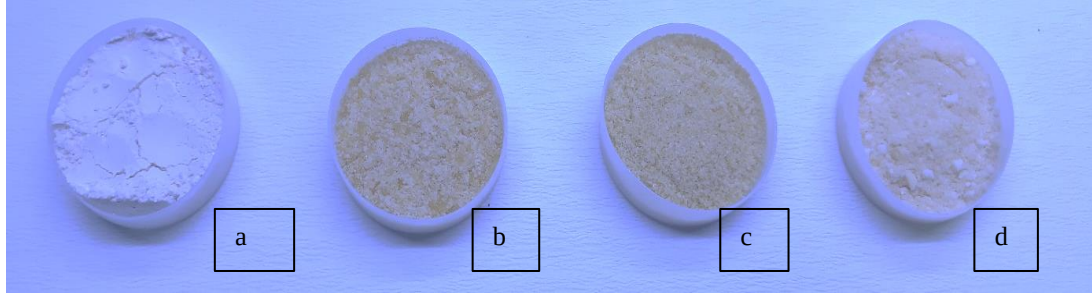
Tablo 4.21. Tozların renk değerleri.

| Tozlar               | L*             | a*              | b*               | H*               | C*               | ΔE               |
|----------------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>Kontrol</b>       | 91.22<br>1.29a | ± 0.30<br>0.12d | ± 4.00<br>0.67e  | ± 85.90<br>0.95a | ± 4.01<br>0.68e  | ± -              |
| <b>Püskürtme</b>     | 90.49<br>0.85b | ± 1.63<br>0.28c | ± 9.35<br>0.84d  | ± 80.20<br>0.75b | ± 9.49<br>0.87d  | ± 5.60<br>1.00d  |
| <b>Etüvde</b>        | 75.54<br>0.35d | ± 6.77<br>0.3ab | ± 24.19<br>1.17b | ± 74.36<br>0.34d | ± 25.12<br>1.20b | ± 26.37<br>1.08b |
| <b>Mikrodalga da</b> | 74.36<br>0.37e | ± 6.80<br>0.19a | ± 27.24<br>0.56a | ± 75.99<br>0.23c | ± 28.08<br>0.58a | ± 29.44<br>0.68a |
| <b>Dondurarak</b>    | 80.28<br>0.20c | ± 6.56<br>0.08b | ± 22.25<br>0.22c | ± 73.58<br>0.12e | ± 23.2<br>0.23c  | ± 22.18<br>0.27c |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (p> 0.05).

3 kurutma yöntemi (etüvde, mikrodalga ve dondurarak kurutma) ile kırmızı renkli tozlar (L \* <80, a\*> 6.5, b \* > 22) üretilmiştir. Ton açısı (H\*), saf kırmızıdan (0°) sarıya (90°) kırmızı-sarı bölgedeki derecelendirmeyi gösterir (Tuyen vd., 2014). Üretilen tozlar kontrole göre daha saf kırmızılık göstermişlerdir. Dondurarak, etüvde ve mikrodalga kurutma sırasıyla en yüksek saf kırmızılık göstermiştir. Kroma (C\*) değeri, rengin yoğunluğunu ve gözlemlenen renk tonunun saflığını vermektedir.

Kroma değeri, püskürtmeyle kurutmada kontrole göre 2 kat, etüvde, mikrodalga ve dondurarak kurutma tekniklerinde ise yaklaşık 6 kat yüksek çıkmıştır.



Şekil 4.9. Farklı teknikle kurutulmuş tozun görünüşü: (a) Püskürterek (b) etüvde (c) mikrodalgada ve (d) dondurularak kurutulmuş tozlar.

Genel olarak, püskürtmeyle kurutulan tozların kırmızılık değerleri daha düşük. diğerlerinin ise kırmızılık değerleri daha yüksektir. Bu durum, Şekil 4.9' dan da açıkça görülmektedir. Kırmızılık değeri yüzey likopenle de ilişkili bir durumdur. Benzer sonuçlar, çeşitli araştırmalarda da bildirilmiş, kurutma işleminin tipinin, tozların renk değiştirmesinde basit bir role sahip olduğu gösterilmiştir. Liyofilizasyonun, spray kurutmadan daha az hafif ve daha yüksek kroma değerine sahip tozlar sunduğu bildirilmiştir (Cano-Higuera vd., 2015b).

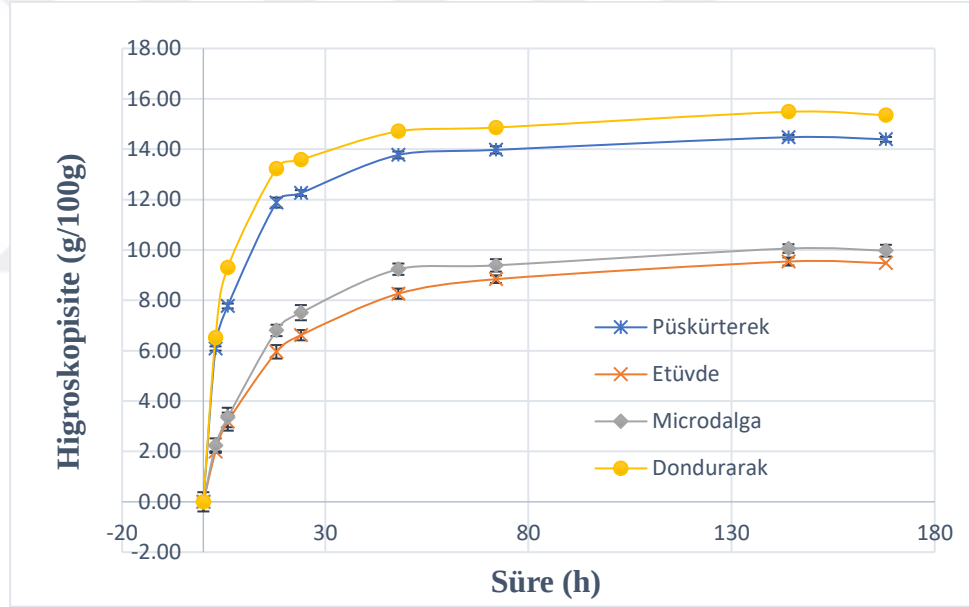
Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen tozların rengi üzerine işlemlerin etkisini görmek için, kontrol numunesi (likopen içermeyen püskürtmeyle kurutulmuş toz) ile dört kurutma işleminin  $\Delta E$  değeri karşılaştırılmıştır. Mikrodalgada ( $\Delta E = 29.44$ ), etüvde ( $\Delta E = 26.37$ ) ve dondurularak kurutulmuş tozlarda ( $\Delta E = 22.18$ )  $\Delta E$  değeri daha yüksek bulunmuştur. Püskürtmeli kurutmanın değerleri ise daha düşük saptanmıştır. Diğer renk değerleri püskürtülerek kurutulanlarda kontrolden daha yüksekti, bunun nedeni eklenen likopene atfedilebilir.

Düşük enkapsülasyon yeterliliği, yüksek likopen yüzey konsantrasyonunu yansıtır, bu da tozların kırmızılığını artırır. Bu nedenle, püskürtmeyle kurutma, likopeni tam anlamıyla kapsüllemeye etkiliydi. Ayrıca kurutma işleminde yüksek sıcaklıkların uygulanması rengi önemli derecede etkilemektedir. Püskürtmeli kurutma işlemi için giriş sıcaklığındaki değişim, nihai ürün olan tozların renk değerlerini önemli ölçüde etkilediği literatürde de bildirilmiştir (Tuyen vd., 2014). Ayrıca, duvar malzemelerinin türü ve çekirdek yükü, elde edilen kapsüllenmiş tozlar arasındaki renk farkına katkıda bulunmaktadır (Kha vd., 2014).

## B. Higroskopisite

Higroskopisite, tozların havadan nemi absorbe etme kapasitesi olup ürünün fiziksel özelliklerini ve stabilitesini değiştirir (Karrar vd., 2021). Higroskopisiteyi değerlendirmek için, tozlar bir hafta (168 saat) boyunca 25 °C'de % 75 bağıl nemin altında tutulmuştur. Elde edilen kinetik sonuçları Şekil 4.10 ve Tablo 4.22'de verilmiştir.

Şekil 4.10'den görüldüğü gibi, tüm tozlar ilk günden (24 saat) başlayarak hızla nem kapmıştır. Üçüncü günden (72h) itibaren nem alım oranı yavaş yavaş azalmıştır. Tozlar higroskopisitesi açısından iki gruba ayrılmıştır: Birinci grup (mikrodalga ve etüvde kurutulmuş tozlar) ve ikinci grup (püskürterek ve dondurularak kurutulmuş tozlar) şeklinde. İkinci grup, nem alımında birinci grubun neredeyse 1.5 katına ulaşmıştır.



Şekil 4.10. Likopen kapsüllenmiş ve farklı tekniklerle kurutulmuş tozların higroskopisite kinetiği.

Higroskopisite değerleri kullanılarak kinetikleri çıkartılmış ve matematiksel modellere uygunluğu araştırılmıştır (Tablo 4.22). Peleg ve Weibull modelleri ( $R^2 > 0.985$ ,  $RMSE < 0.005$ ) deneysel kinetiği en iyi açıklayan model olmuştur. Peleg denklemindeki 'b' parametresi denge nemini tahmin etmede kullanılmıştır. 'a' parametresi, ilk saatler için nem kazanımının bir ölçüsüdür. Kurutma yöntemleri arasında, iki grupta her iki parametre (a, b) değişmiş ve artmıştır.

Tablo 4.22. Farklı tekniklerle kurutulan likopen içeren tozların higroskopluk ve su kazanımı modelleme sonuçları (168 saat).

| Kurutma<br>teknîği | a <sub>w</sub><br>(168 saat) | Model   | Parametreler |       | R <sup>2</sup> | Düz.R <sup>2</sup> | RMSE  | Meq<br>g/100g<br>db |
|--------------------|------------------------------|---------|--------------|-------|----------------|--------------------|-------|---------------------|
|                    |                              |         | a            | b     |                |                    |       |                     |
| Püskürterek        | 0.719<br>± 0.001*            | Peleg   | 32.67        | 6.70  | 0.998          | 0.997              | 0.003 | 14.93               |
|                    |                              | Weibull | 0.57         | 9.36  | 0.996          | 0.996              | 0.003 |                     |
| Etüvde             | 0.716<br>± 0.001*            | Peleg   | 127.12       | 9.64  | 0.999          | 0.999              | 0.001 | 10.36               |
|                    |                              | Weibull | 0.64         | 25.48 | 0.993          | 0.992              | 0.003 |                     |
| Mikrodalga         | 0.716<br>± 0.009*            | Peleg   | 105.27       | 9.14  | 0.996          | 0.995              | 0.003 | 10.94               |
|                    |                              | Weibull | 0.67         | 21.88 | 0.985          | 0.983              | 0.005 |                     |
| Dondurarak         | 0.724<br>± 0.001*            | Peleg   | 26.23        | 6.29  | 0.999          | 0.999              | 0.002 | 15.90               |
|                    |                              | Weibull | 0.58         | 7.90  | 0.994          | 0.994              | 0.004 |                     |

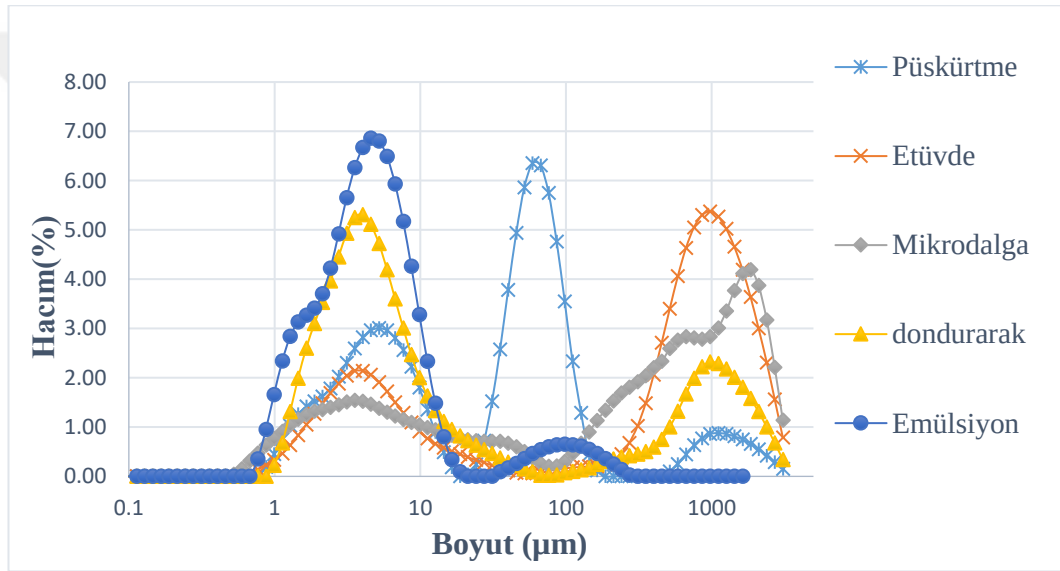
a<sub>w</sub>: su aktivitesi, Meq: dengede nem miktarı, \* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (p> 0.05).

Ayrıca, Weibull denkleminde elde edilen katsayılar (a, b) parametreleri aynı eğilimi göstermiştir. En yüksek değerler birinci grupta (mikrodalga ve etüvde kurutulan tozlar) bulunmuştur. Düşük "b" değeri, tozlar tarafından yüksek bir nem kapma potansiyeline işaret eder. İkinci grup tozlarda yüksek nem alımı bulunmuştur. Bu, Şekil 4.10 'de , dondurarak ve püskürterek kurutulan tozlar için sırasıyla 15.90 ve 14.94 g nem/100g toza ulaşan tahmini denge nemleriyle açıkça gösterilmiştir. Dengeye ulaşan tozların su aktivitelerinde istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır (p<0.05).

Mikropartiküllerin higroskopisitesi, esas olarak gam arabik ve ardından maltodekstrinle doğrudan duvar polimerik materyali ile ilgilidir (Turchiuli vd., 2014). Farklı tekniklerle kurutulan tozların higroskopik davranışı aynı zamanda başlangıçtaki nem içeriği (nem gradyanı) ve doyumluk fenomeniyle de ilişkilendirilebilir. Bulgulardan yola çıkarak, bu davranış kurutma yöntemi ve ortaya çıkan mikropartiküllerle ilişkilendirilebilir. Partiküllerin boyutu ve şekli, nemli havayla temas alanını etkiler. Parçacık boyutu ne kadar küçükse nem kapma kapasitesi o kadar yüksek olur (Karrar vd., 2021). Dondurarak ve püskürterek kurutma teknikleri, daha higroskopik toz üretimine yol açmıştır. Benzer sonuçlar, kapsülleme ve kurutma tekniklerinin nem alımı, hacmi üzerindeki etkisini de bildirmiştir (Karrar vd., 2021; Silva vd., 2012b; Turchiuli vd., 2014).

### C. Partikül Boyutu

Emülsiyon ve tozların ortalama parçacık boyutu Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Hazırlanan emülsiyon, 5  $\mu\text{m}$ 'lik bir nanoemülsiyon (sulu fazda dağılmış yağ) özelliğindedir. Nanoemülsiyonlar, homojenizasyon işleminin başarısını göstermiştir. Işık mikroskobu altında nanoemülsiyonların (x100) homojen boyutları dikkat çekmiştir (Şekil 4.11). Düşük çaplı damlacıklar, emülsiyonun stabilitesini artırır ve sonuç olarak, duvar malzemesi sistemi içinde iyi dağılım gösteren çekirdek malzemesi sağlar. Uygun işlem koşulları (dönme hızı, homojenizasyon vb) ve doğru emülsifiye edici ajanların kullanımı, nanoemülsiyon dağılımı ve boyut küçültmeye yardımcı olur (Turchiuli vd., 2005).



Şekil 4.11. Kapsüllenmiş likopen tozlarının ve emülsiyonun partikül boyutu.

Elde edilen pikler incelendiğinde, tozlar genel olarak benzer boyutta olduğu ama hacminin farklı olduğu görülmektedir. Dondurularak kurutulmuş tozlar, hacim olarak 5  $\mu\text{m}$  seviyesinde yoğunlaşmıştır. Aksine, etüv ve mikrodalgada kurutulmuş tozlar 1000  $\mu\text{m}$ 'den daha büyük boyuta sahip olduğu görülmüştür. Aslında, etüv ve mikrodalgada kurutulanlar daha büyük partiküllere sahip olup homojen bir şekilde öğütülmüştür. Dolayısıyla, bu boyutlardaki sonuçları görmek sürpriz olmamıştır. Bununla birlikte, püskürtülerek kurutulmuş toz, 70  $\mu\text{m}$  'de yüksek bir hacimsel dağılım ve 5  $\mu\text{m}$  'ye yakın bir orta dağılım göstermiştir. Ayrıca, 1000  $\mu\text{m}$  'ye yakın küçük bir pik de gözlemlenmiştir. Bu sonuncu pik, muhtemelen üretim işlemi sırasında veya sonrasında ince partiküllerin aglomerasyonundan kaynaklanmış olabilir.

SEM görüntüleri elde edilen bu parçacık boyutlarını doğrular niteliktedir (Şekil 4.15). Kurutma yöntemi, partikül boyutu ve şeklindeki değişim üzerinde ciddi bir etkiye sahipti. Parçacıkların boyutu ve fiziksel özellikleri, uygulanan işlemlere ve kurutma sürecine bağlıdır (Cano-Higuera vd., 2015b). Ayrıca, farklı çekirdek ve duvar malzemeleriyle yapılan önceki kapsülleme çalışmaları, bileşimin mikropartiküllerin boyut dağılımındaki rolünü de ortaya koymuştur (Ballesteros vd., 2017; Zardini vd., 2018).

#### D. Tozların Antioksidan Aktivitesi (DPPH, ABTS)

Farklı tekniklerle kurutulmuş tozların antioksidan aktivitesi, hem ABTS hem de DPPH radikallerini giderme etkisi istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $p>0.05$ ). En yüksek ABTS ve DPPH değerleri sırasıyla 0.58 mM TE/g ve 0.69 mMTE/g olarak belirlenmiştir. Kurutma yönteminin, işlem sırasında antioksidan bileşimi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı görülmektedir.

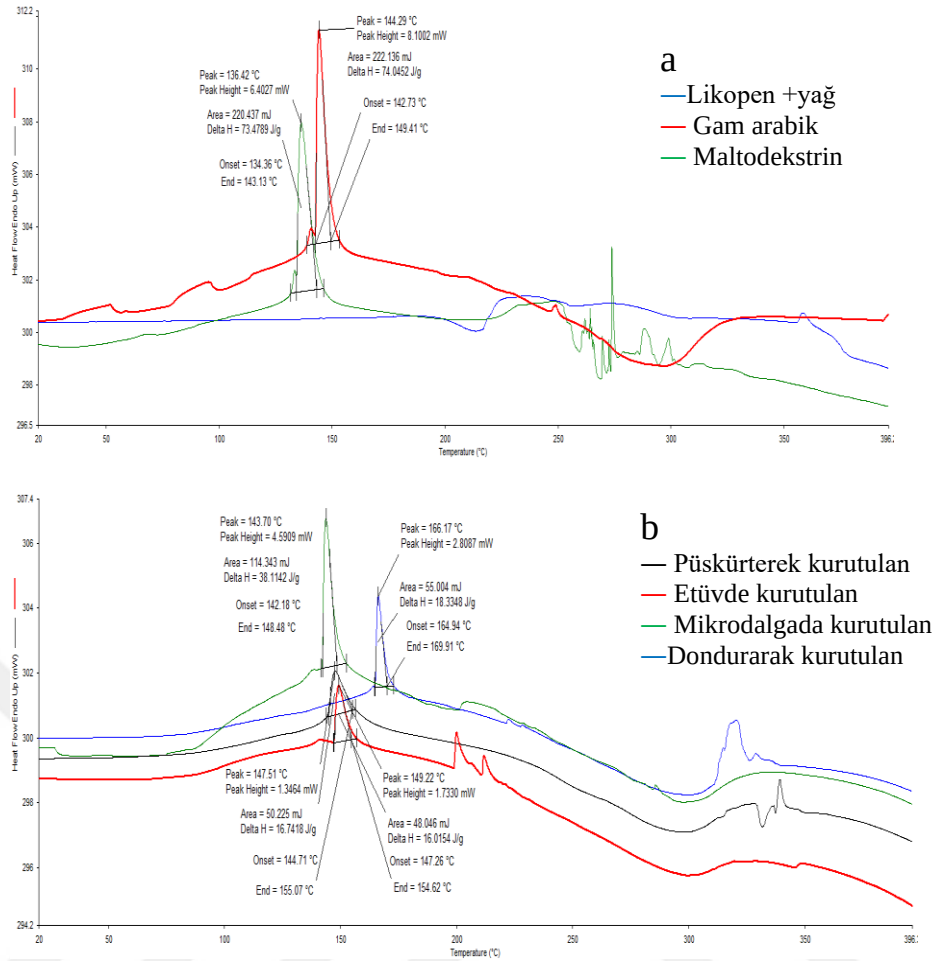
Tablo 4.23. Farklı kurutma teknikleriyle üretilen tozların antioksidan aktivitesi.

| Kurutma tekniği     | ABTS mM TE/g | DPPH mM TE/g |
|---------------------|--------------|--------------|
| <b>Püskürterek</b>  | 0.52 ± 0.05* | 0.69 ± 0.09* |
| <b>Etüvde</b>       | 0.58 ± 0.05* | 0.65 ± 0.16* |
| <b>Mikrodalgada</b> | 0.53 ± 0.08* | 0.62 ± 0.08* |
| <b>Dondurarak</b>   | 0.53 ± 0.09* | 0.65 ± 0.01* |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p>0.05$ ).

#### 4.3.5.3. Termal Özellikler (DSC)

Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC), kapsüllenmiş biyoaktif bileşiklerin özelliklerini araştırmada kullanılabilecek analizlerden biridir. Mikropartiküllerin erime davranışını, kristalleşme durumunu ve termal stabilitesini izlemek mümkündür (Zardini vd., 2018). Likopen içeren yağ, maltodekstrin, gam arabik ve kapsüllenmiş tozların DSC termogramları, Şekil 4.12 (a, b) 'de verilmiştir. Hem maltodekstrin hem de gam arabik'in termogramı, erime noktalarına karşılık gelen sırasıyla 136 ve 144 °C'de endotermal keskin pikler vermiştir. Bu duvar malzemeleri 250 ile 350 °C arasında ekzotermik zirveler de göstermiştir. Gözlenen bu geçiş, muhtemelen kaplama malzemesinin depolimerizasyonundan kaynaklanmaktadır (Ballesteros vd., 2017).



Şekil 4.12. Ham maddelerin (a) ve kapsüllenmiş tozların (b) DSC eğrileri.

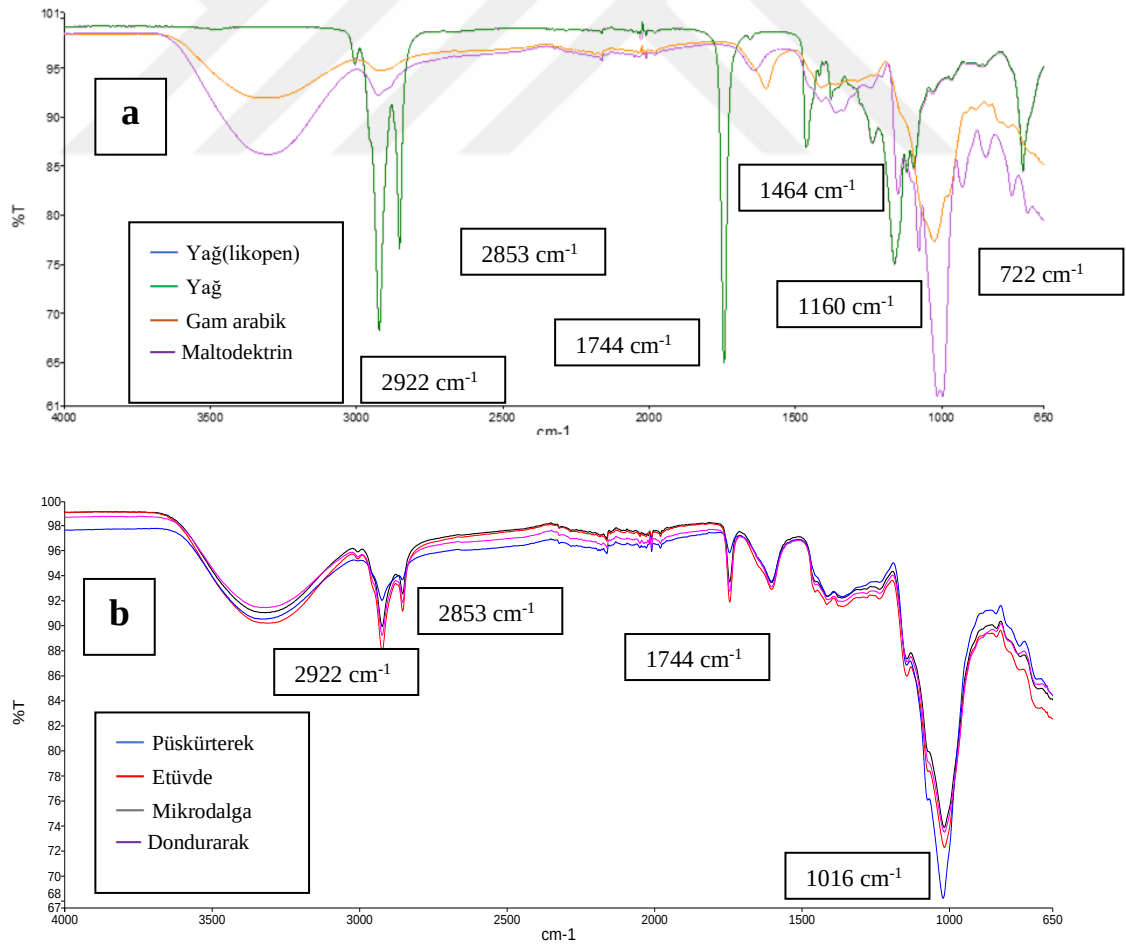
Kristal likopen, 169 ile 187° C arasında karakteristik bir erime noktasına sahiptir (Jhan ve Pethe, 2020; Dahong Li vd., 2018). Likopen içeren yağ, endotermik pikler göstermemiştir, sadece bir ekzotermik pik, 200 ile 230 °C arasında olup yavaşça azalan eğimle baseline çizgisine dönüş göstermiştir. Erime piklerinin olmaması, likopenin ve lipid fazdaki dağılımının açık amorfitesini kanıtlamaktadır.

Ham maddelerle karşılaştırıldığında, püskürterek kurutulan tozlara ait pikin 147 °C'ye kaydığı görülmüştür. Kapsüllemeye bozunma sıcaklığı artmıştır. Duvar malzemelerinin karışımıyla lipofilik faz arasındaki moleküller arası kuvvetler, kompleksin termal davranışını değiştirmiştir. Bu sonuçlar, Dahong Li vd. (2018) 'in çalışmasındaki likopen ve modifiye nişasta emülsiyonunun sergilediği davranışla benzerdir. Çalışmada, likopen nanoemülsiyonun içine hapsedilip duvar malzemesiyle kaplanmasıyla erime eğilimi engellenmiştir.

Etüvde kurutulan kompleks, püskürterek kurutulan tozlara yakın bir sıcaklık (149 °C) ve düşük pik yükseklikleri sergilemiştir. Lipofilik matrisin dahil edilmesi duvar malzemesi özelliklerini değiştirmiştir. Her iki teknik de yüksek bir enkapsülasyon yeterliliği sunmuştur, bu nedenle termal reaktiviteleri kaplama kabiliyeti ile ilişkilendirilebilir. Bu arada, mikrodalgada kurutulan toz, 143 °C sıcaklıkta ve nispeten daha yüksek bir pik vermiştir. Dondurarak kurutma, erime noktasını 166 °C'ye ötelemiştir. Son teknikle daha fazla termal stabiliteye ulaşılacağı düşünülebilmektedir. Bu nedenle, aynı bileşime sahip bir kompleksin erime sıcaklığının değişimi, kapsülün farklı morfolojilerine yol açan kurutma tekniğine bağlıdır.

#### 4.3.5.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR)

Üretilen tozların fonksiyonel grupları hakkında bilgi sağlamak için FTIR analizi yapılmıştır. Kurutulmuş tozların ve ham maddelerin (yağ, likopen ile zenginleştirilmiş yağ, maltodekstrin ve gam arabik) spektrumları Şekil 4.13 'de görülmektedir.



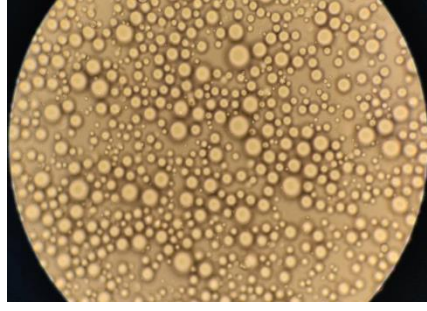
Şekil 4.13. Ham maddelerin(a) ve üretilen tozların (b) FTIR spektrumları.

Kapsüllenmiş tozlar ile hammaddeler spektrumları birbirine benzer olduğu görülmüş, ancak yağa ait bantlar, kaplayıcı polimerlere göre kısalmıştır. 3700 ile 3100  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki ve 996  $\text{cm}^{-1}$ 'deki bantlar belirgin olmuştur. Bu bantlar, sırasıyla O-H gerilmesini (stretching) (Jhan ve Pethe, 2020), trans CH'yi düzlemden eğilmesini (bending) temsil eder (Zardini vd., 2018). Diğer küçük pikler, 1600 ve 1500  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki C=C gerilme titreşim pikleri (stretching vibration) gibi (Zardini vd., 2018), kaplayıcıların varlığını göstermektedir. Çekirdek (likopen / yağ) kontrolü, 2922 ve 2853  $\text{cm}^{-1}$  olmak üzere iki pik noktasında C-H gerilme titreşim bantlarıyla (Pérez-Masiá vd., 2015) ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 1744  $\text{cm}^{-1}$ 'de yağın trigliseridine özgü C=O grubu (Dahong Li vd., 2018; Pérez-Masiá vd., 2015) ve 1464, 1160 ve 722  $\text{cm}^{-1}$ 'de küçük spektral bantlar gözlenmiştir.

Üretilen tozlarda, yağ fraksiyonuna atfedilen bantlar, tamamen entegre edilmiş (küçük bantlar) veya düşük seviyelere, 2900  $\text{cm}^{-1}$  ve 1744  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki büyük bantlar durumunda, indirilmiştir. Bu nedenle moleküler yapı, likopen içeren lipid fraksiyonu tüm tozların kapsadığını göstermektedir. Son bantlar dikkatli incelendiğinde azalan yoğunluğun, önceki bulunan enkapsülasyon yeterliliğiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Son bantlar dikkatli incelendiğinde azalan yoğunluğun, önceki bulunan enkapsülasyon yeterliliğiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Püskürterek kurutulmuş tozlar, bir dereceye kadar düşük yoğunlukta ve en iyi enkapsülasyon yeterliliğine sahip bulunmuştur. Bununla birlikte, daha az enkapsülasyon yeterliliğine sahip diğer kurutma teknikleri, daha fazla yoğunluk ile sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar, Pérez-Masiá vd. (2015)'un çalışmasıyla uyumludur. Araştırmacılar, FTIR analizinin kapsülleme teknolojisine bağlı olan enkapsülasyon yeterliliğini yansıttığını belirtmişlerdir. Sprey kurutma ve eşeksenli elektrosprey arasında enkapsülasyon yeterliliğinde fark olduğu gösterilmiştir.

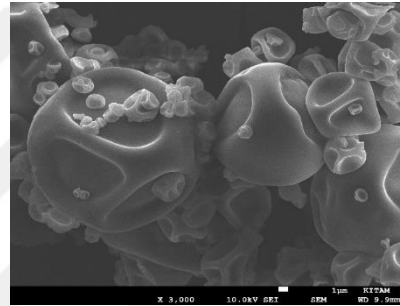
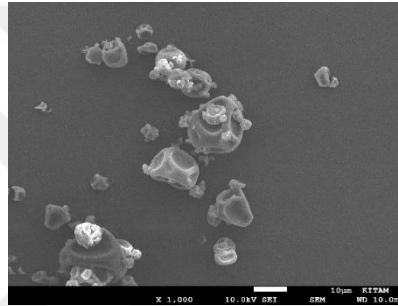
#### **4.3.5.5. Işık Mikroskobu ve SEM Görüntüleri**

Optimum noktada hazırlanan emülsiyon, ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Görüldüğü gibi, nanoemülsiyon damlacıkları, küresel şeklindedir. Polimer karışım, iyi bir emülsifiye edici özellik sergilemiştir (Şekil 4.14).

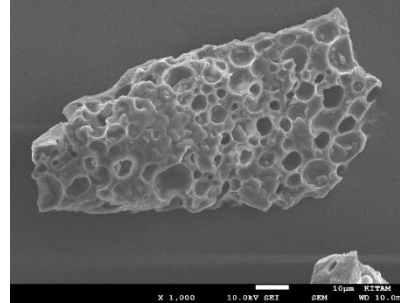
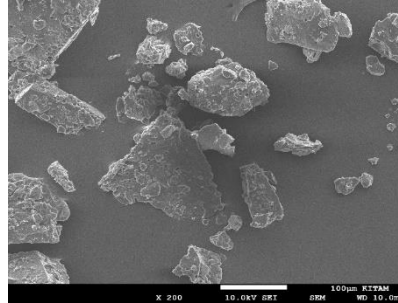


Şekil 4.14. Optimum nokta emülsiyonunun ışık mikroskobu görüntüleri (x100).

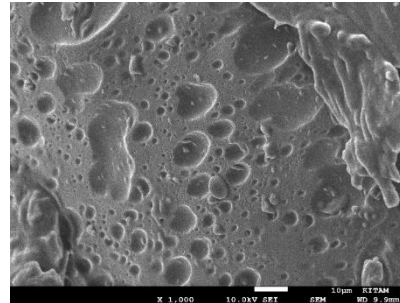
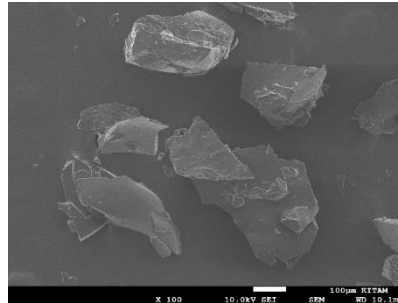
Farklı teknikle kurutulmuş tozların morfolojisi Taramalı elektron mikroskobuyla incelenmiş, elde edilen mikrograflar Şekil 4.15'de verilmiştir. Kurutma teknikleri arasında morfolojik olarak farklılıklar gözlenmiştir.



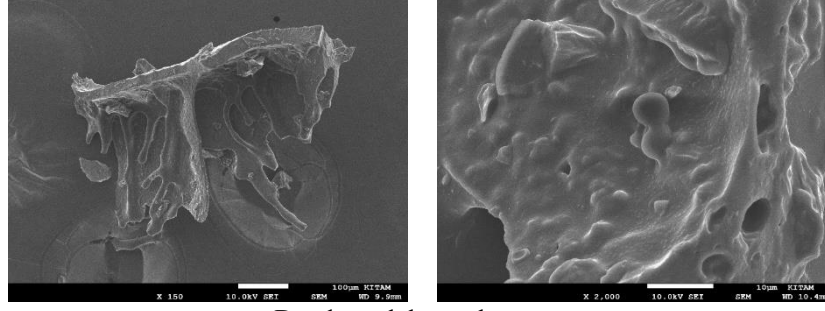
Püskürtmeyle kurutulmuş toz



Etüvde kurutulmuş toz



Mikrodalgada kurutulmuş toz



Dondurarak kurutulmuş toz

Şekil 4.15. Kapsüllenmiş tozların SEM morfolojik görüntüleri.

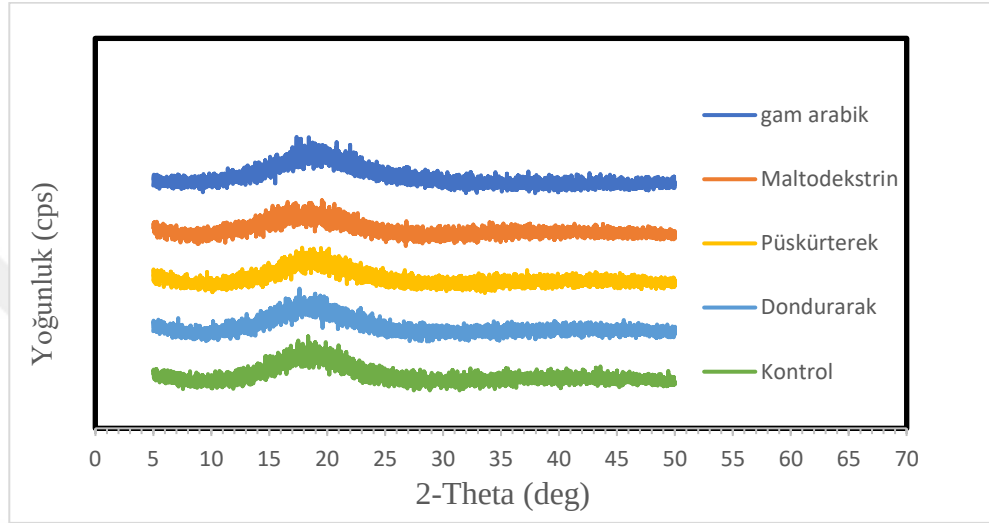
Şekil 4.15'te partikül boyutlarında büyük varyasyonlar olduğu gözlemlenmektedir. Yüzeyin şekli ve pürüzsüzlüğü, kapsülleme maddelerinin kapsülleme için uygunluğunu göstermektedir (Krishnan vd., 2005). Püskürtmeli kurutmayla, oluklu pürüzsüz yüzeylere sahip küresel mikropartiküller üretilmiştir. Püskürtmeli kurutma, mikro ölçekli damlacıktaki sıvıların atomizasyonuna dayalı bir işlemdir. Sıcak hava akımının temasıyla bu damlacıklar nemlerini serbestçe bırakıp katı küresel parçacıklar oluşturabilmektedir. Bu sonuçlar, birçok araştırmacının da kaydettiği gibi, püskürtmeli kurutma ve atomizasyon mikro partikül üreten bir prosestir (Dahong Li vd., 2018; Rutz vd., 2017).

Liyofilize edilmiş tozlar, bazı gözenekler ve küresel gömülü parçacıklar ile uzun kristal morfolojik yapıya yol açmıştır (Şekil 4.15). Dondurarak kurutma işlemi, diğer yöntemlerin aksine, suyun önceden dondurulmuş süblimasyon yoluyla uzaklaştırılmasına dayanır, bu da gevrek bir yapıya neden olur (Rutz vd., 2017).  $\beta$ -siklodekstrinle likopen dahil olmak üzere (Nunes ve Mercadante, 2007) biyoaktif bileşiklerin kapsüllendiği birçok çalışmada (Rutz vd., 2017) benzer yapı bulunmuştur.

Emülsiyonların etüvde ve mikrodalgada kurutulması, analiz için öğütülen çok büyük pul (flakes) eldesine yol açmıştır. Her iki yöntem de gözenekli bir yapı sergilemiştir. Etüvde kurutulmuş numunelerde daha fazla pürüzlülük ve büyük gözenekler ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, mikrodalga işlemi pürüzsüz yüzeylerle sonuçlanmıştır. Kurutma yöntemleri, kurutulmuş emülsiyonların son mikroskobik ve makroskopik yapısında önemli bir rol oynamıştır (Ho vd., 2020; Pérez-Masiá vd., 2015). Dolayısıyla, bu yapılar mikropartiküllerin dağılımını ve biyoaktif enkapsülasyon yeterliliğini de etkilemektedir.

#### 4.3.5.6. X-Işını Kırınım (XRD)

XRD analizi, tozların kristalliklerini veya amorf hallerini göstermek için kullanılır. Şekil 4.16, kaplayıcıların (gam arabik ve maltodekstrin), likopen içeren tozların (püskürtülerek kurutulmuş ve dondurularak kurutulmuş) ve kontrolün (likopen içermeyen püskürtmeyle kurutulmuş toz) XRD spektrumlarını göstermektedir. XRD 2 $\theta$ 'de spektrumları yüksek keskin pikler göstermemiş, ancak hepsi 10° ile 25° arasında geniş tek bir pik göstermiştir.



Şekil 4.16. Farklı kurutma tekniğiyle üretilen tozların ve kontrol numunesinin (likopen olmadan püskürtmeyle kurutulmuş numune) X ışını kırınım spektrumları.

Şekil 4.16 incelendiğinde, tüm kaplayıcılar, likopen içeren ve içermeyen tüm tozların amorf yapıda olduğu gözlenmiştir. Shu vd. (2006) likopenin kristal yapısını kanıtlamışlar, kapsüllemeyle bu yapının ortadan kalktığını bildirmişlerdir. Likopenin, kullanılan kaplayıcılar (jelatin ve sakaroz) tarafından tamamen gömüldüğünü açıklanmışlardır. Pelissari vd. (2016) tarafından bildirildiği gibi, likopen / yağ eklenmesi, difraksiyon piklerinin tespit edilmemesinin arkasındaki başka bir neden olabilir. Mikropartiküllerdeki likopen / yağ artışının difraksiyon yoğunluğunu azalttığını bulmuşlardır. Bu çalışmada, likopenin polimerik matris ile etkileşime girdiği ve tümünün amorf bir kompleks oluşturduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak, likopen için başarılı bir kapsülleme sisteminin oluşumunu kanıtlayabilir.

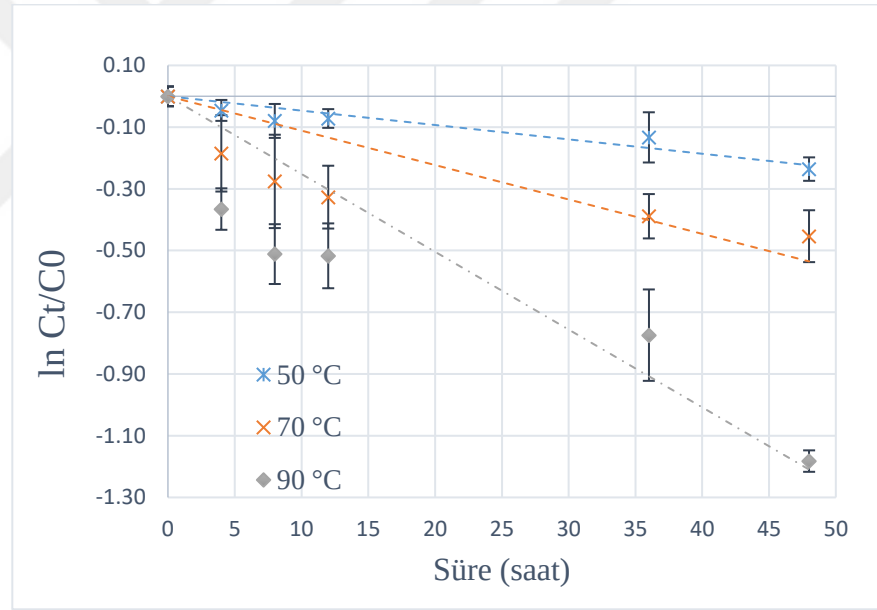
#### 4.3.5.7. Stabilit  Testleri

##### A. Kapsüllenmiş Likopenin Termal Degradasyon Kinetiği

Tozların farklı sıcaklıkta (50, 70 ve 90  C, oksijensiz ortamda) degradasyon kinetiği şekil 4.17'de ve bunlara karşılık gelen parametreler Tablo 4.24'de verilmiştir.

Tablo 4.24. Püskürterek kurutulan tozlara ait termal degradasyon kinetik ve termodinamik parametreleri.

| Sıcaklık,   C | K, 10 <sup>-3</sup> saat <sup>-1</sup> | R <sup>2</sup> | t <sub>1/2</sub> , saat | E <sub>a</sub> , kJ/mol | ΔG, kJ/mol | ΔH, kJ/mol-k | ΔS, 10 <sup>-3</sup> kJ/mol-k |
|---------------|----------------------------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|------------|--------------|-------------------------------|
| 50            | 4.70                                   | 0.9523         | 147.48                  | 39.95                   | 91.730     | 37.325       | -168.36                       |
| 70            | 11.10                                  | 0.8221         | 62.45                   |                         | 95.176     | 37.162       | -169.06                       |
| 90            | 25.10                                  | 0.9133         | 27.62                   |                         | 98.481     | 37.000       | -169.30                       |



şekil 4.17. Püskürterek kurutulan tozların termal degradasyon kinetiği.

şekil 4.17'den de görüldüğü gibi, sıcaklığın 50'den 90  C'ye çıkarılmasıyla degradasyon hızı artmıştır. Isıya maruz kalma süresi uzadıkk  likopenin degradasyonu da o kadar fazla olmuştur. 90  C sıcaklık degradasyonu daha çok arttırmıştır. Etki, özellikle uzun maruz süresinde (84 saat) daha belirgin olmuştur.

Likopenin degradasyonu, birinci dereceden kinetik reaksiyona uymuştur. Hız sabiti (K) 50, 70 ve 90  C için sırasıyla 4.7x10<sup>-3</sup>, 11.1x10<sup>-3</sup> ve 25.1x10<sup>-3</sup> saat<sup>-1</sup> olarak

hesaplanmış, sıcaklık artışıyla sabitenin de arttığı tespit edilmiştir. Kapsüllenmiş antioksidanların termal degradasyonu üzerine yapılan birçok çalışma, reaksiyonun birinci dereceden hız kinetiğine uyduğunu göstermiştir. Hız sabiti, sıcaklık ve süreden çok etkilenebilmektedir (Henry vd., 1998; Lago ve Noreña, 2017). Bu sabite, likopenin ısı işlem stabilitesini değerlendirmek için kullanılabilir.

Likopen mikropartikülünün yarı ömür süresi, hız sabiti ile ters orantılı bulunmuştur. Bu, başlangıç likopen içeriğinin yarıya düştüğü süreyi ifade etmektedir. 50°C, en yüksek yarı ömrü (147 saat) göstermiş ve stabilite üzerinde daha az etkiye sahip olmuştur. Yağ sistemindeki likopenin degradasyonunun diğer karotenoidlerden daha hızlı olduğu, özellikle 85 °C'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir (Henry vd., 1998).

Likopenin degradasyonunu başlatmak için gerekli olan aktivasyon enerjisi 39.95 kJ / mol olarak bulunmuştur. Bu enerji, daha önce (yağda) görülen kapsüllenmemiş likopen (24.61 kJ / mol) ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. Bu, kapsüllenmiş likopenin degradasyona daha az duyarlı olduğunu ve reaksiyonu aktive etmenin daha zor olduğunu ifade eder. Ayrıca, polimer karışımı (maltodekstrin ve gam arabik) ile kapsülleme, sıcaklığın etkisini azaltmada etkili olmuştur.

Gibbs serbest enerji aktivasyonu ( $\Delta G$ ) değerleri, reaksiyon kendiliğinden (spontane) oluşmasını ifade eder, aktif ve reaktan durum arasındaki farkı gösterir (Ariahu vd., 2021). Pozitif  $\Delta G$  değerleri, çalışılan tüm sıcaklıklarda reaksiyonun kendiliğinden olmadığı anlamını taşır. Bu parametre, daha yüksek sıcaklıklarda artmıştır.

Entalpi değerleri ( $\Delta H$ ) tüm işlem sıcaklıkları için benzerdir ( $\approx 37$  kJ / mol-k). Pozitif değerler göstermesi, likopen degradasyon reaksiyonunun endotermik olduğu anlamına gelmektedir. Bu süreç enerji açısından, olumsuz ve elverişsizdir. Genellikle karotenoidlerde karşılaşılr. Bariyeri aşmak ve reaksiyonu gerçekleştirmek için gereken yüksek enerji ile tanımlanan daha yüksek değerlerdir (Ariahu vd., 2021; Zhao vd., 2014).

Aktivasyon entropisi ( $\Delta S$ ), sistemdeki moleküllerin düzensizlik düzeyini ortaya çıkarır ve negatif değer, reaksiyonun entropik olarak elverişsiz olduğunu ve reaktiflerden yapısal olarak daha organize olduğunu gösterir (Ariahu vd., 2021). Polimerler (gam arabik ve maltodekstrin) tarafından kapsüllenmiş likopende düşük

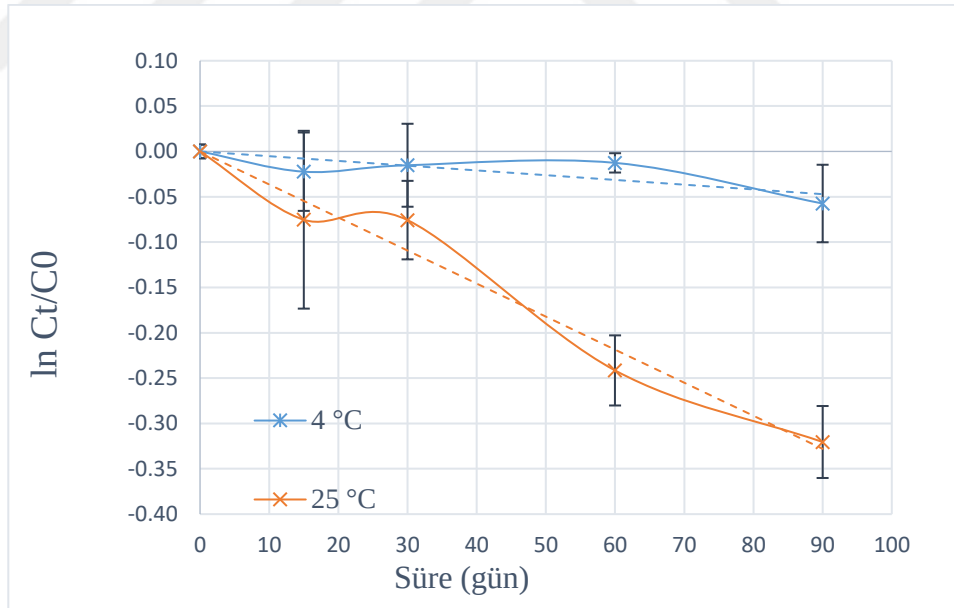
değerlere sahip entropi, bunun kapsüllenmemiş (yağda) olduğundan daha kararlı olduğunu gösterir.

### B. Depolama Stabilitesi

Likopen, birçok karotenoid maddeler ve antioksidanlar, işleme ve depolama koşullarına duyarlıdır. Bu nedenle, üretilen likopen mikrokapsüllerinin stabilitesini incelemek çok önemlidir. Kapsüllenmiş likopenin saklama stabilitesi, 4 ve 25 ° C'nin altında 90 gün boyunca izlenmiştir. Degradasyon kinetiklerinin sonuçları, Tablo 4.25 ve Şekil 4.18 'de verilmiştir.

Tablo 4.25. Püskürterek kurutulmuş tozların depolanmaya bağlı olarak kinetik ve termodinamik parametrelerindeki değişim.

| Sıcaklık, ° C | K, 10 <sup>-3</sup><br>.gün <sup>-1</sup> | R <sup>2</sup> | t <sub>1/2</sub> ,<br>gün | E <sub>a</sub> , kJ/mol | ΔG,<br>kJ/mol | ΔH,<br>kJ/mol-k | ΔS, 10 <sup>-3</sup><br>kJ/mol-k |
|---------------|-------------------------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------|---------------|-----------------|----------------------------------|
| 4             | 0.5                                       | 0.840          | 1386.29                   | 63.18                   | 83.38         | 37.42           | -165.81                          |
| 25            | 3.6                                       | 0.987          | 192.54                    |                         | 85.08         | 37.25           | -160.43                          |



Şekil 4.18. Kapsüllenmiş tozun 4 °C ve 25 °C'de depolanması sırasında likopenin degradasyon kinetiği.

Şekil 4.18 'de görüldüğü gibi, 4 °C'de depolamada az bir degradasyon görülmüş, bu oran, sıcaklık 25 °C'ye çıktığında artmıştır. 90 günlük depolama sonucunda, sıcaklıklar arasında degradasyon farkının çok açıldığı görülmektedir.

Likopenin degradasyonu logaritmik bir eğilime sahipti ve birinci dereceden kinetik reaksiyon kinetiğine uymaktadır. Degradasyon hızı sabiti (K) sırasıyla 4 ve 25 °C için günde  $0.5 \cdot 10^{-3}$  'den  $3.6 \cdot 10^{-3}$  'e yükselmiştir. 25 °C'de likopen mikropartiküllerinin depolama süresinin yarı ömrü 192 olarak belirlenirken düşük sıcaklıkta (4 °C), bu süre 1386 güne uzamıştır ki bu 25 °C'de depolamadan 8 kat daha düşük bir degradasyon oranıdır. Literatürde likopen kapsülleme için benzer sonuçlar bildirilmiştir. Kapsüllenmiş likopenin alıkonma miktarının 4 °C'de 25 °C'ye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Rocha-Selmi vd., 2013a; Rocha vd., 2012). Kullanılan kapsülleme sistemlerinin likopeni korumada etkili olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, karotenoid açısından zengin yağ içeren mikrokapsüllerin depolanması, 5 ve 20 °C'de aynı degradasyon sonuçlarını gösterdiği bildirilmiştir (Chuyen vd., 2019).

Likopenin degradasyonunu başlatmak için gereken aktivasyon enerjisi 63.18 kJ / mol bulunmuştur. Gibbs serbest enerji aktivasyonu ( $\Delta G$ ) ve entalpi ( $\Delta H$ ) değerleri pozitif bulunmuştur. Her iki sıcaklıktaki degradasyonun spontan olmadığı ve endotermik bir reaksiyon olduğu anlamına gelmektedir. Aktivasyon entropisinin ( $\Delta S$ ) negatif değeri, reaksiyonun entropik olarak uygun olmadığını ve reaktiflerden yapısal olarak daha organize olduğunu göstermiştir. Kapsülleme koruma etkilerine ek olarak, soğukta depolamanın karotenoidlerin korumasını ve stabilitesini iyileştirdiği bildirilmiştir. Sıcaklık artışı ile renk bozulması ve degradasyon reaksiyonlarının hızlanmasından sorumlu olduğu da rapor edilmiştir (Chuyen vd., 2019; Jain vd., 2016).

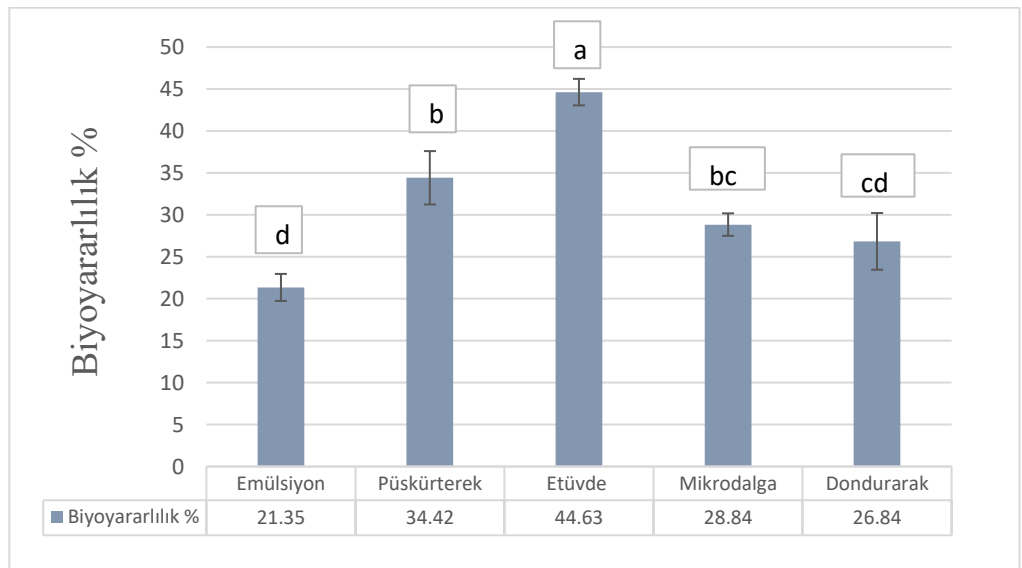
#### **4.3.5.8. Biyoyararlılık**

Biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık iki farklı terimdir. Ancak *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda besinlerin ve biyoaktif bileşenlerin salınımını ifade etmek için birbirinin yerine kullanılabilmektedir. Herhangi bir bileşenin biyoerişilebilirliği, gastrointestinal kanalda (GIT) salıverilmesi ve bağırsak epitel hücreleri tarafından absorpsiyon için mevcudiyeti anlamına gelir. Bununla birlikte, biyoyararlanım, ilk yola ek olarak, sistematik dolaşıma ve ayrıca bileşenin kullanımına kadar ulaşılmasını ifade eder (Jain vd., 2020). Benzer şekilde, biyoaktif bileşiklerin büyük kısmı için, gıda matrisindeki karotenoidlerin biyoyararlılığında varyasyonlar sözkonusudur. Karotenoid tipine ve meyve veya sebzelerden elde edildiği kaynağa bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. Ayrıca, GIT'deki bu mevcudiyet, bir sonraki kalın bağırsakta değilse, ince bağırsakta potansiyel olabilir. Emilmeyen karotenoidler, dışkı ile vücuttan atılacaktır (Goñi vd.,

2006). Örneğin, çiğ domates püresi gibi likopen açısından zengin gıdaların yenmesi düşük bir biyoerişilebilirlik gösterir (%1.5'ten az) (Liang vd., 2021). Bu nedenle, likopenin yararlı sağlık etkileri, likopen içeren gıdaların alınmasından sonra garanti edilmez. Bu sonuçlar, likopenin (hidrofobiklik) özellikleri ve ayrıca gastrik fazın zorlu koşulları ile ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, kapsülleme uygulaması (kaplama malzemeleri), emülgatörlerin eklenmesi (protein veya polisakkarit bazlı emülgatörler) ve bitkisel yağın (mısır yağı, zeytinyağı) dahil edilmesi, likopen ve karotenoidlerin biyolojik olarak erişilebilirliğini arttırmanın kullanılan yollarındandır (Jain vd., 2020; Liang vd., 2021; Montero vd., 2016; Zhao vd., 2020).

Enkapsülasyon matriksinden likopen salınım hızı, büyük ölçüde sindirim fazına bağlıdır. Bu oran düşük (ağız fazında), orta (mide fazında) ve yüksek (bağırsak fazında) olarak sınıflandırılabilir. Süre, pH, enzim gibi birçok faktör likopen salınımını ve biyoyararlanımını etkileyebilir (Charpashlo vd., 2021). Likopen içeren matris, sulu dispersiyondan sonra ve GIT'deki yolculuğu sırasında yüzey erozyonuna, polimerin parçalanmasına ve başka olaylara maruz kalmaktadır. Bu eylemler, dış difüzyonu ve sonuç olarak ince bağırsakta difüzyonel taşıma için likopenin serbest bırakılmasını artırır (Charpashlo vd., 2021).

Bu çalışmada, geliştirilen likopen mikrokapsülleri, likopenin biyoyararlanımını değerlendirmek için simüle edilmiş gastrointestinal sindirime tabi tutulmuştur. Farklı yöntemle kurutulmuş kapsüller ve kapsüllememiş likopenle zenginleştirilmiş yağ ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.19. Emülsiyon ve kapsüllemiş likopen tozlarının biyoyararlılığı.

Likopenle zenginleştirilmiş fındık yağı emülsiyonu, incelenen numuneler arasında en düşük biyoerişilebilirliği (%21.35) göstermiştir. Bununla birlikte, bulgular önceki çalışmalarla uyumludur. Likopenin biyoerişilebilirliği, soya yağı ve pirinç nişastası kullanılarak su içinde yağ emülsiyonunda %20.20 (Jain vd., 2020), ceviz yağı, susam yağı ve keten tohumu yağı bazlı nanoemülsiyonlarda %18 ile %25 (Zhao vd., 2020), zeytin ve mısır yağı kullanılan domates püresi emülsiyonları için %19 ile %30 arasında (Liang vd., 2021) saptanmıştır.

Etüvde kurutulan numunelerin en yüksek biyoerişilebilirliğe (%44.63) sahip olduğu, onu püskürterek (%34.42), mikrodalgayla (%28.84) ve dondurarak kurutma (%26.84) izlediği saptanmıştır. Farklı kapsülleme sistemleriyle yapılan birçok çalışma, karotenoidler için yakın oranda biyoerişilebilirlik göstermiştir. Örneğin, Zhang et al. (2016) (Zhang vd., 2016)  $\beta$ -karoten (mısır yağı içinde dağılmış) için aljinat boncuklarının biyoerişilebilirliğini %35 ile %40 arasında belirlemişlerdir. Likopen oleoresinin mısır gluteni ile enkapsülasyonu, aynı zamanda, gastrik fazda likopenin %30'dan daha azının salındığı bağırsak fazına salınımı da sürdürmüştür. Zein proteininin gastrik fazda düşük sindirilebilirliği, likopenin korunması ve geç salınması için en önemli sebep olabilir (Xue vd., 2013).

Zhang vd. (2015), lutein mikrokapsüllerinin fizikokimyasal özelliklerini ve biyoyararlanımını analiz etmişlerdir. Püskürterek kurutmaya elde edilen nişasta kaplı lutein kapsüllerin, daha fazla çözünürlük ve depolama stabilitesi gösterdiği, *in vivo* biyoyararlanımlarının, ticari luteine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ravi ve Baskaran (2015), iyonik jelasyon yoluyla kitosan ve glikolipid ile çekirdek malzeme olarak yerfıstığı yağının içinde dağılmış fukoksantin kullanarak fukoksantin nanojelleri ürettikleri çalışmalarında; kapsüllemenin, biyoyararlanımın iyileştirilmesine büyük katkı sağladığını saptamışlardır. Ayrıca, kapsülleme sistemlerinin bileşimi, biyoyararlanım yüzdesi üzerinde bir değişiklik yaptığı, fukoksantin ve kitosan-glikolipid karışımı ile hazırlanan nanojel, tek başına kapsülleyicilere (%35.5-51) veya kontrole (%21.5) göre daha fazla biyoyararlanım (%68) gösterdiği bildirilmiştir.

Likopenin çift yüklü lipozomlardan *diyaliz membran yöntemi* kullanılarak *in vitro* salınımı,  $\beta$ -siklodekstrin ile kompleks oluşturma yoluyla etkin bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Jhan ve Pethe, 2020). Ayrıca, gam arabik ve maltodekstrin ile püskürterek kurutulan astaksantin içeren karides lipid ekstraktının kapsüllendiği

çalışmada (Montero vd., 2016), kapsüllenmiş özütün biyoerişilebilirliğinin, kapsüllenmemiş özütten daha yüksek (6-11 kat) olduğu saptanmıştır. Ayrıca, gam arabik ile kapsülleme ( $\approx$  %55), maltodekstrinle kapsüllemekten ( $\approx$  %30) ve hatta maltodekstrin- gam arabik karışımından ( $\approx$  %30) daha yüksek bir biyoerişilebilirlik değeri gösterdiği kaydedilmiştir. Gam arabik ile kapsüllemenin, astaksantin'i lipolitik enzimler için daha erişilebilir hale getirdiği öne sürülmüş, biyolojik olarak erişilebilir fraksiyonların antioksidan aktivitesi, kapsüllenmiş numunelerde daha yüksek ve astaksantin'in biyolojik olarak erişilebilirliği ile pozitif ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Bazı çalışmalarda, hidrofilik bileşiklerin kapsüllenmesinin, stabilitelerini koruduğunu ve kapsüllenmemiş olandan daha fazla bağırsak salınımını iyileştirdiğini bildirilmiştir. Soya proteini ve gam arabik ile hazırlanan dondurularak kurutulmuş antosiyanin mikrokapsüllerinin, simüle edilmiş mide sıvılarına karşı dirençli olduğu bulunmuştur (Mansour vd., 2020). Başka bir çalışmada, fenolik bileşik içeren gam arabik, maltodekstrin ve peynir altı suyu protein izolatının çeşitli kombinasyonlarıyla üretilen mikrokapsüllerin püskürterek kurutmaya elde edilenden daha yüksek bir kapsülleme verimine sahip olduğu ve bağırsak fazında önemli bir fenolik yük saldıgı bulunmuştur. Ayrıca, daha sonraki aşamada antioksidan aktivitede dikkate değer bir artış olduğu da bildirilmiştir (Norkaew vd., 2019). Polisakkaritler ve proteinler, yüksek kapsülleme verimliliği elde etmenin yanı sıra, biyoaktif bileşikleri korumak için çok etkili duvar malzemeleri olduğu bildirilmiştir (Mansour vd., 2020; Norkaew vd., 2019).

Yağ emülsiyonuyla karşılaştırıldığında, mikrodalga ve dondurularak kurutulan tozlar birbirine yakın değerler gösterirken, etüvde ve püskürterek kurutulanların, biyoerişilebilirliği sırasıyla yaklaşık 2 ve 1.5 kat daha fazladır. Tozlar aynı bileşenleri ve zenginleştirilmiş yağ miktarını içermelerine rağmen farklı salınım göstermişlerdir. Bu nedenle, likopen salınımı, kapsülleme verimliliği (% EE), kapsüllerin mikro ve makro yapısı (küresel, kristaller, pullar) ve hapsedilmiş yağ damlacıklarının boyutu gibi özellikler ile kontrol edilebilir. Etüvde ve püskürterek kurutulan kapsüller, sırasıyla %71.12 ve %88.94 gibi yüksek kapsülleme verimliliğine sahip olduğu ifade edilebilir. Muhtemelen, bu verimlilik, sert mide koşullarının likopen üzerindeki etkisini etkili bir şekilde azaltmış ve son bağırsak fazının misellerinde salınımını artırmıştır. Dondurularak kurutulmuş numuneler en düşük EE'ye (%37.85) sahipti, buna bağlı olarak düşük biyoerişilebilirlik seviyesi göstermiştir. Mikrodalgada kurutulan

örneklerin önemli % EE'sine (%67.72) rağmen, biyoerişilebilirliği artırmak için yeterli değildi. Bağırsak fazında likopen salınımındaki azalma, midede erken salınım ve dolayısıyla instabilite ile ilişkili olabilir.

Kaplayıcı polimerler yağ damlacıklarının etrafında kalarak koruyucu bir tabaka oluşturarak safra tuzlarının ve lipazın erişimini engelleyebileceği bildirilmiştir (Jain vd., 2020). Yağ damlacıklarının serbest kalması, salınımın azalmasının arkasındaki başka bir neden olabilir. Ancak serbest bırakılmalarına rağmen lipazın enzimatik etkisi yağ damlacıkları ve misel oluşumu için yeterli olmayabilir. Damlacık boyutu, lipid bileşimi ve lipaz yetersizliği gibi birçok faktör, likopen veya karotenoid misellerindeki çözünürlüğü ve sulu çözeltideki dağılımını azaltacaktır (Ha vd., 2015; Liang vd., 2021; Zhang vd., 2016).

#### 4.4. Koaservasyon Tekniği ile Likopen Enkapsülasyonu ve Optimizasyon

##### 4.4.1. Koaservatların Reolojik Özellikleri

Koaservatların akış davranışını incelemek için reolojik analizler yapılmıştır. Görünür viskozite ve Power-law modeliyle ilişkili sonuçlar, Tablo 4.26'da verilmiştir. Görünür viskoziteler, test edilen kayma hızına göre karışımlar arasında önemli varyasyonlar kaydedilmiştir. 7, 8 ve 9. noktalar (jelatin: pektin) en yüksek viskozite değerleri göstermiştir. Tablo 4.26'dan görüldüğü gibi, 4'ten 6'ya kadar olanlarla (jelatin: pektin: gam arabik) ardından 1'den 3'e kadar olanların (jelatin: gam arabik) viskozite değerlerinin düşük olduğu tesbit edilmiştir. Viskozite değeri, karışımın bileşimiyle ilişkilidir. Jelatin çözeltisine pektin eklenmesi görünür viskoziteyi artırmıştır.

Tablo 4.26. Koaservat ve kaplayıcı çözeltilerinin, pH, iletkenlik ve reolojik özellikleri.

| No | Jel.% | Pek.<br>% | G.A<br>,% | Yağ<br>% | İlk pH         | İlk mv         | İletkenli<br>k m<br>siemens/<br>cm | Power- Law modeli<br>fakörleri               |                                   | Viskozi<br>te<br>mPas |
|----|-------|-----------|-----------|----------|----------------|----------------|------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
|    |       |           |           |          |                |                |                                    | K : kıvam<br>indeksi<br>(Pa.s <sup>n</sup> ) | n:akış<br>davranı<br>ş<br>indeksi |                       |
| 1  | 3     | 0         | 3         | 10       | 5.74 ±<br>0.05 | 77.0 ±<br>0.0  | 1.83 ±<br>0.13a                    | 0.0030                                       | 0.8594                            | 1.77 ±<br>0.23d       |
| 2  | 3     | 0         | 3         | 30       | 5.71 ±<br>0.05 | 78.0 ±<br>2.8  | 1.79 ±<br>0.08a                    | 0.0023                                       | 0.9364                            | 1.51 ±<br>0.18d       |
| 3  | 3     | 0         | 3         | 50       | 5.75 ±<br>0.03 | 75.0 ±<br>1.4  | 1.68 ±<br>0.04b                    | 0.0021                                       | 0.9444                            | 1.74 ±<br>0.30d       |
| 4  | 3     | 1.5       | 1.5       | 10       | 4.62 ±<br>0.01 | 146.0 ±<br>1.4 | 1.49 ±<br>0.02c                    | 0.0137                                       | 0.9703                            | 12.05 ±<br>0.65c      |
| 5  | 3     | 1.5       | 1.5       | 30       | 4.55 ±<br>0.01 | 148.0 ±<br>1.4 | 1.38 ±<br>0.01d                    | 0.0132                                       | 0.9699                            | 11.26 ±<br>1.52c      |

|         |   |     |     |    |             |             |              |        |        |               |
|---------|---|-----|-----|----|-------------|-------------|--------------|--------|--------|---------------|
| 6       | 3 | 1.5 | 1.5 | 50 | 4.54 ± 0.01 | 149.0 ± 0.0 | 1.33 ± 0.02d | 0.0091 | 1.0050 | 9.34 ± 0.55c  |
| 7       | 3 | 3   | 0   | 10 | 3.98 ± 0.02 | 185.5 ± 2.1 | 1.18 ± 0.01c | 0.0401 | 0.9588 | 33.56 ± 0.74a |
| 8       | 3 | 3   | 0   | 30 | 3.97 ± 0.04 | 186.5 ± 2.1 | 1.15 ± 0.02c | 0.0363 | 0.9845 | 33.90 ± 6.63a |
| 9       | 3 | 3   | 0   | 50 | 4.01 ± 0.02 | 180.5 ± 0.7 | 1.15 ± 0.01c | 0.0282 | 0.9807 | 25.90 ± 1.48b |
| Jel. %3 | 3 | 0   | 0   | 0  | 5.66 ± 0.07 | 80.0 ± 1.7  | 1.03 ± 0.00  |        |        |               |
| Pek. %3 | 0 | 3   | 0   | 0  | 3.00 ± 0.02 | 247.0 ± 4.6 | 0.71 ± 0.00  |        |        |               |
| G.A. %3 | 0 | 0   | 3   | 0  | 5.96 ± 0.06 | 62.3 ± 4.2  | 0.70 ± 0.01  |        |        |               |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

Elde edilen sonuçlar Power-law modeline uygun bulunmuştur (Tablo 4.26). Akış davranışı indeksi, tüm noktalarda 1'e yakın saptanmıştır. Bu, emülsiyonların Newtonian akışkan davranışına sahip olduğunu göstermektedir (Ansari vd., 2020). Aynı modelden hesaplanan kıvam indeksi (K) de benzer bir görünür viskozite eğilimi göstermiştir. Jelatin: gam arabik emülsiyonları ile düşük değerler, tersine jelatin: pektin emülsiyonuyla yüksek değerler kaydedilmiştir. 9. nokta (yağın% 50'si) haricinde, yağ içeriğindeki artış emülsiyonların viskozitesini önemli etkilememiştir.

Gam arabik, elektrostatik itme özelliğiyle stabilize edici bir emülsiyon faktörü, kıvamlaştırıcı etkisiyle de viskozite arttırıcıdır (Shariffa vd., 2016). Buna rağmen, emülsiyonlara pektin ilavesi daha belirgin bir etki yaratmıştır. Pektin konsantrasyonun artışıyla kıvamlaştırıcı ajandan jelleştirici ajana dorğu kayma olur (Saha ve Bhattacharya, 2010). Yüksek viskoziteli emülsiyonlar, işleme sırasında damlacıkların birleşmesini azaltır, ancak endüstride veya laboratuvar ölçeğinde uygulanabilirlik açısından viskozite belli sınırlarda olmalıdır (Wanyi vd., 2020).

#### 4.4.2. pH, mv ve Elektriksel İletkenlik

Kaplayıcılar dahil tüm çözeltilerin pH ve mv ölçümleri (pH'ı 3.5'e düşürmeden önce) 50 °C'de gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, 25 °C'de son koaservat için elektriksel iletkenlik ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.26'da verilmiştir. pH, aynı zamanda mv potansiyeliyle de ifade edilebilen kavram, çözeltilerin asitliğini ve alkalinitliğini yansıtır. mv potansiyeli, pH değerlerinin artması veya azalması ile ters orantılıdır. Polimer karışımlarının ana hazırlanan çözeltisi asidik seviyeler göstermiştir. Preparatların asitliği, çözeltilere pektin eklenmesiyle artmış (5.74 ile 3.98 pH), artan mv potansiyeline yansımıştır. Jelatin hepsinde bulunduğu için, pH ve mv potansiyeline, sadece pektin ve gam arabik içeriği etki etmiştir.

Elektriksel iletkenlik, çözeltilerin elektriği iletme yeteneğini saptama ve iyonik bileşimleri hakkında fikir vermesi bakımından kullanılan bir tekniktir (Vila vd., 2006). Örneklerin elektriksel iletkenliği 1.15 ile 1.83 mS/cm arasında değişmiştir. Elektriksel iletkenlik, jelatin: gam arabik: pektin karışımı için, 1: 0: 1, ardından 1: 0.5: 0.5 ve 1: 0: 1 oranlarında önemli ölçüde azalmıştır. Polimerik bileşim, elektriksel iletkenlik değerlerini etkileyen farklı iyonik yükler sunmuştur. Elektriksel iletkenliğin azalmasının nedeni, çözeltideki polimerlerin kendi aralarındaki etkileşimleri ve polielektrolit özelliklerinin azalması olabilir (Wen Jia vd., 2020).

Elektriksel yükler, elektrostatik olarak bağlanma ile koasevat oluşumunun ana prensibidir. 3.5 pH 'da, jelatinin izoelektrik noktasının altında olduğundan pozitif bir yük sunan bir proteindir. Ancak, pektin ve gam arabik gibi polisakkaritler, bu pH 'larda negatif yüklüdür (Carpentier vd., 2021; Lan vd., 2020). Buna göre, zıt yüklü polimerlerin birbirine çekmesiyle, bir araya gelerek yağ mikro damlacıklarının yakalanmasına neden olur.

#### **4.4.3. Optimimum Nokta Seçimi**

##### **4.4.3.1. Likopen İçeriği ve Enkapsülasyon Yeterliliği**

En iyi koaservasyon karışımını seçmek için, likopen içeriği ve enkapsülasyon (koaservasyon) yeterliliği değerleri dikkate alınmalıdır. Likopen içeriği, enkapsülasyon yeterliliği ve toz verimi Tablo 4.27'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, yağdaki artış, hem toplam hem de yüzey likopen değerini artırmıştır. 3., 6. ve 9. karışımlardan likopence zengin tozlar üretilmiştir. Toplam likopen, 5'ten 24 mg/g kadar yükselmiştir. Bununla birlikte, enkapsülasyon yeterliliği ters bir eğilim göstermiş, artışın yeterlilik değerlerini önemli ölçüde düşürdüğü ( $p < 0.05$ ) ortaya çıkmıştır. Değerler, % 10'dan 30 ve 50 çıktığında neredeyse iki kat azalmıştır. Dolayısıyla, polimer karışımları likopen içeren yağ damlacıklarını kapsüllemeye yetersiz olmuştur. İyi bir koaservasyon kompleksi oluşması için yağın % 10'da tutulması gerektiği görülmüştür. Ayrıca, polimerlerin bileşimi, enkapsülasyon yeterliliğini etkileyen önemli bir faktördü. 1, 2. ve 3. karışımların (jelatin: gam arabik) yeterliliği, karışımlar arasında en düşük değerlere sahipti. Karışıma pektin eklenmesi veya tamamen yerine gam arabik ile ikame edilmesi, değerleri artırmıştır. Genel olarak, 4. (% 74) ve 7. (% 68) karışımlar en yüksek enkapsülasyon yeterlilik

değerlerini vermiştir. Dolayısıyla, iyi bir koaservat üretimi için jelatin: gam arabik: pektin (1: 0.5: 0.5) ve jelatin: pektin (1: 1) en uygun karışımlar oldukları saptanmıştır.

Tablo 4.27. Toplam ve yüzey likopen, enkapsülasyon yeterliliği sonuçları ve toz verimi.

| No | Toplam likopen, mg/g | Yüzey likopen, mg/g | Enkapsülasyon yeterliliği, % | Toz verimi, %  |
|----|----------------------|---------------------|------------------------------|----------------|
| 1  | 5.89 ± 1.08          | 3.30 ± 0.18         | 42.91 ± 8.62c                | 63.18 ± 10.07a |
| 2  | 15.90 ± 2.11         | 10.40 ± 0.84        | 34.12 ± 4.75d                | 63.64 ± 3.68a  |
| 3  | 22.52 ± 1.00         | 17.86 ± 1.78        | 20.75 ± 4.79e                | 58.17 ± 0.71a  |
| 4  | 6.26 ± 0.58          | 1.55 ± 0.25         | 74.96 ± 4.69a                | 59.42 ± 4.96a  |
| 5  | 16.30 ± 0.67         | 8.63 ± 0.46         | 47.00 ± 3.41bc               | 61.22 ± 0.27a  |
| 6  | 24.85 ± 2.54         | 13.67 ± 1.2         | 44.77 ± 4.00bc               | 53.67 ± 1.57a  |
| 7  | 5.02 ± 0.05          | 1.58 ± 0.47         | 68.55 ± 7.40a                | 57.65 ± 1.82a  |
| 8  | 13.50 ± 1.00         | 6.52 ± 0.57         | 51.67 ± 2.71b                | 52.93 ± 1.48a  |
| 9  | 14.46 ± 2.17         | 7.20 ± 2.04         | 50.67 ± 4.32bc               | 40.33 ± 9.38b  |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

9 haricinde, tüm noktaların toz verimi birbirine yakın bulunmuştur. Maksimum toz verimi %63 civarında olmuştur. Toz verimi, karışımın bileşimi ve kurutma tekniğinden etkilenebilmektedir. Pektin ve yağ ilavesi, uygulanan işlemler ve püskürtmeli kurutma işleminin toz geri kazanımını biraz azalttığı görülmektedir. Bu, endüstriyel ölçekte üretim verimini iyileştirmek ve kayıpları önlemede yardımcı olabilir. Yeterlilik sonuçlarında, karışımın bileşimi ve yağ içeriği etkili faktörler olduğu görülmüştür. 4. karışım, enkapsülasyon yeterliliği ve verimi açısından en iyi koaservasyon karışımı olarak bulunmuştur. Bu karışım, jelatin: gam arabik: pektin karışımı (1:0.5:0.5) ve %10 yağ içeriğinden oluşmaktadır. Aynı karışımın hazırlanması ve aynı koşulların gerçekleştirilmesiyle, benzer veya en yakın değerler beklenmektedir.

Farklı çekirdek ve duvar malzemeleri kullanılarak yapılan birçok çalışmanın sonuçları birbirinden farklıdır. Duvar ve çekirdek malzemelerinin geniş bir bileşim aralığına rağmen, yağda dağılmış likopenin jelatin ve gam arabik ile kapsüllenmesinin verimli (>% 90) olduğu bulunmuştur (Rocha-Selmi vd., 2013a).

Rutz vd. (2017), duvar malzemeleri olarak kitosan, ksantan ve pektin kullanarak kompleks koaservasyon yoluyla karotenoid açısından zenginleştirilmiş yağı

kapsüllemişlerdir. Oluşan koaservatlar, atomizasyon ve liyofilizasyon yoluyla kurutulmuş ve enkapsülasyon yeterliliği % 67'yi aştığını bulmuşlardır. Yeterliliğin, büyük ölçüde duvar malzemesi bileşimi ve kurutma yöntemine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Atomizasyon işlemiyle çok düşük verim, liyofilizasyonla yüksek değerler (>% 98) elde etmişlerdir. Jelatin ve gam arabik ile hazırlanmış ksanton koaservatlarının dondurularak kurutulmasında benzer bulgular bulunmuş, yüksek enkapsülasyon yeterliliği (% 68) ve verimi (% 75) elde edilmiştir (Ho vd., 2020). Benzer şekilde, astaksantin ekstraktının jelatin ve kaju gamı ile kapsüllenmesinde yüksek yeterlilik (% 60) saptanmıştır (Gomez-Estaca vd., 2016). Ayrıca, Sacha İnchi yağını kapsüllemek için ovalbumin, tannik asit ve pektin kullanılarak kompleks koaservasyon yapılmış ve % 71-78 arasında değişen yüksek enkapsülasyon yeterliliğine ulaşmıştır (da Silva Soares vd., 2021). Yüksek yeterliliğin, karışımın ve yağ oranının iyi seçimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Homojenizasyon ve kurutma işlemi gibi bazı faktörlerin biyoaktif bileşiklerin mükemmel kapsüllenmesinin elde edilmesini etkileyebileceği kaydedilmiştir.

Koaservasyonda, 9 deneysel noktadan elde edilen tozların bazı fiziksel özellikleri Tablo 4.28'de görülmektedir.

Tablo 4.28. 9 Koaservasyon ile üretilen tozların fiziksel özellikleri.

| No | Nem, %        | Su aktivitesi    | Yoğunluk, g/cm <sup>3</sup> | Carr indeksi,%  | Çözünürlük,%   |
|----|---------------|------------------|-----------------------------|-----------------|----------------|
| 1  | 2.28 ± 0.26b  | 0.122 ± 0.012d   | 0.166 ± 0.004c              | 41.00 ± 1.41d   | 55.08 ± 3.16e  |
| 2  | 2.56 ± 0.35ab | 0.155 ± 0.01cd   | 0.180 ± 0.003b              | 41.00 ± 0.00d   | 59.23 ± 1.03de |
| 3  | 2.92 ± 0.46ab | 0.179 ± 0.022abc | 0.197 ± 0.006a              | 42.00 ± 1.41cd  | 65.83 ± 5.18d  |
| 4  | 3.57 ± 1.43a  | 0.160 ± 0.056bcd | 0.151 ± 0.001d              | 43.11 ± 1.26bcd | 98.90 ± 1.40a  |
| 5  | 3.25 ± 0.13ab | 0.188 ± 0.006abc | 0.162 ± 0.002cd             | 45.00 ± 1.00abc | 90.30 ± 9.51b  |
| 6  | 3.14 ± 0.76ab | 0.199 ± 0.053abc | 0.188 ± 0.011ab             | 45.00 ± 2.83abc | 82.15 ± 4.15c  |
| 7  | 3.37 ± 1.01ab | 0.202 ± 0.055ab  | 0.153 ± 0.008cd             | 44.67 ± 1.15abc | 97.48 ± 1.92ab |
| 8  | 3.40 ± 0.64ab | 0.221 ± 0.023a   | 0.157 ± 0.006cd             | 48.00 ± 2.83a   | 94.58 ± 4.02ab |
| 9  | 2.66 ± 0.26ab | 0.182 ± 0.006abc | 0.184 ± 0.002b              | 46.00 ± 0.00ab  | 93.75 ± 0.78ab |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (p> 0.05).

#### 4.4.3.2. Çözünürlük

Farklı karışımlarla üretilen tozların çözünürlükleri arasında önemli bir farklılıklar saptanmıştır. 7, 8 ve 9 noktalarda, % 93.75 ile % 97.48 arasında en yüksek çözünürlük belirlenmiştir. Geri kalan noktalar, daha az bir çözünürlük varyasyonu

göstermiştir. 1, 2 ve 3 numaralı noktalar en zayıf çözünürlük değerleri göstermiştir. Karışımın bileşimi, pektin ilavesi suda çözünürlüğü artıran önemli bir faktördü. Yağ miktarı ise net bir etkiye sahip değildi.

Üretilen kapsüllerin suda çözünürlüğü, içerdiği polimerlere, hazırlama yöntemine ve yükleme amacına (yavaş veya hızlı salım) bağlı olarak değişmektedir (Comunian vd., 2013). Önceki bazı çalışmalarda çok farklı sonuçlar mevcuttur. Örneğin Gomez-Estaca vd. (2016), zayıf bir çözünürlük (% 28.6) bulurken, diğer bir çalışmada (Comunian vd., 2013), % 9.46 ile % 95.7 arasında geniş bir varyasyon saptanmıştır.

#### **4.4.3.3. Nem ve Su Aktivitesi**

Kapsüllenmiş tozların nem içeriği % 2.28 ile % 3.57 arasında değişmiştir. 1 ve 4. örnekte en düşük ve en yüksek nem değerleri saptanmıştır. Genel olarak, diğer tozların su içeriği birbirinden istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Kapsüllenmiş tozların su aktivitesi 0.122 ile 0.221 arasında değişmiştir. En düşük değerler, jelatin/gam arabik karışımıyla hazırlananlarda bulunmuştur (1 ve 2). Nem içeriği, dondurarak kurutulmuş antosiyanin koaservatları için % 1.39 - 4.40 (Shaddel vd., 2018), dondurularak kurutulmuş aspartam koaservatları için % 3.99 -11.99 (Comunian vd., 2013), dondurularak, püskürterek ve etüvde kurutulmuş ksanton koaservatlar için, sırasıyla % 11.30, 11.20 ve 13.61 (Ho vd., 2020), bezelye proteini izolatu-şeker pancarı pektin ve kenevir tohumu yağıyla oluşturulan kompleks koaservatlarının püskürtmeli kurutmayla elde edilen mikrokapsüllerinde % 0.81-2.7 (Lan vd., 2021) arasında saptanmıştır. Görüldüğü gibi bulgular, birçok çalışma ile uyumludur. Ayrıca, su aktivitesi değerleri de literatürde bildirilenlere yakın bulunmuştur. Su aktivitesi, kenevir tohumu yağı mikrokapsüllerinde 0.13-0.15 (Lan vd., 2021), likopen (ayçiçeğinde dağılmış) mikrokapsüllerinde 0.26 -0.29 arasında (Silva vd., 2012b) olarak bildirilmiştir.

#### **4.4.3.4. Yoğunluk ve Carr indeksi**

Kapsüllenmiş yağın yığın yoğunluğu ve Carr indeksi sırasıyla 0.151 ile 0.197 ve % 41 ile % 48 arasında değişmiştir. Tüm tozların Carr indeksi % 41'in üzerinde olup, kötü akışkanlığı göstermektedir. Aynı polimer bileşimlerine sahip gruplarda, yağ miktarı arttıkça, yığın yoğunluğu da artış göstermiştir. Yağların yoğunluğu tozlardan daha yüksek, ancak sudan daha düşük bulunmuştur. Yağ miktarı artışıyla tozların yığın

yoğunluğunu artması beklenen bir durumdur. Gam arabik tozlarının yüksek yığın yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir. Bu yoğunluk ve ardından akışkanlık, pektin ilavesiyle önemli bir azalma eğilimi göstermiştir. Koaservatın bileşimine (yağ içeriği, polimer içeriği ve türü) ek olarak, tozun yığın yoğunluğu ve akışkanlığı da kurutma sıcaklığına ve nem faktörüne bağlı olduğu rapor edilmiştir (Tuyen vd., 2014).

#### 4.4.3.5. Antioksidan Aktivite (DPPH, ABTS)

Antioksidan aktivite, ABTS ve DPPH serbest radikallerini giderme etkileriyle belirlenmiştir (Tablo 4.29). Kapsüllenmiş likopenin ABTS ve DPPH serbest radikallerini giderme etkisi sırasıyla 1.4 ile 3.15 mM TE/g ve 0.61 ile 1.82 mM TE/g arasında değişmiştir. Aynı polimer karışımı grubu içinde yağ içeriğindeki artışla (% 10'dan % 50'ye), tozların antioksidan aktivitesi de artırmıştır. 2, 3, 5, 6, 8 ve 9 numaralı örnekler, % 10 yağ içerenlere (1, 4 ve 7) göre neredeyse iki kat fazla antioksidan aktiviteye sahiptir. Bu yüksek antioksidan aktivite, açıkça likopen içeren yüksek yağ içeriği ile ilişkilidir. Bulunan toplam likopen, aynı polimer karışımı grupları içinde ilave yağ içeriğinin artışına paralel olarak artmıştır.

Tablo 4.29. Tozların antioksidan aktivitesi.

| No | ABTS mM Trolox Eq/ g | DPPH, mM Trolox Eq/ g |
|----|----------------------|-----------------------|
| 1  | 1.40 ± 0.17d         | 0.61 ± 0.24c          |
| 2  | 2.07 ± 0.42bcd       | 1.46 ± 0.78ab         |
| 3  | 2.46 ± 0.26abc       | 1.13 ± 0.26abc        |
| 4  | 1.60 ± 0.15d         | 0.74 ± 0.10bc         |
| 5  | 2.56 ± 0.28ab        | 1.34 ± 0.27abc        |
| 6  | 3.15 ± 1.08a         | 1.82 ± 0.86a          |
| 7  | 1.81 ± 0.11cd        | 0.71 ± 0.25bc         |
| 8  | 2.43 ± 0.35abc       | 1.74 ± 0.44a          |
| 9  | 2.93 ± 0.49a         | 1.66 ± 0.56a          |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

Serbest veya kapsüllenmiş karotenoidlerin, DPPH ve ABTS gibi serbest radikalleri giderme etkisi yüksektir. Yapılan bir çalışmada,  $\beta$ -karoten kompleksi koaservasyonu ile üretilen tozlar, DPPH radikallerine karşı önemli bir temizleme kapasitesi göstermiş, bu teknikle kapsülleme, stabiliteyi ve antioksidan aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir (Jain vd., 2016). Başka bir çalışmada, yüksek likopen içerikli maltodekstrin ve modifiye nişasta içeren mikropartiküller, ABTS radikallerinin

yüksek süpürme kapasitesi göstermiştir. Bu, çekirdek malzeme yüklemesinin veya konsantrasyonunun, kapsüllerin antioksidan kapasitesinden büyük ölçüde sorumlu olduğu bildirilmiştir (Souza vd., 2018). Aynı şekilde, Chuyen vd. (2019), çekirdek (karotenoid bakımından zenginleştirilmiş yağ) malzemesinin duvar malzemesine göre artmasının tozların antioksidan gücünü artırdığını kaydetmişlerdir.

#### 4.4.4. Optimum Nokta Yapılan Analizler

##### 4.4.4.1. Optimum Noktanın Reolojik Analizleri

Optimum koaservasyon noktası için emülsiyonda bulunan reolojik özellikler Tablo 4.30'da verilmiştir. Görünür viskozite (9.66 mPas) ve kıvam indeksi (0.010 Pa.s<sup>n</sup>), jelatin: pektin: gam arabik karışımlarının deneysel noktalarında (3, 4 ve 5) elde edilen veriler aralığında saptanmıştır. Bu polimerler, tek başına veya kombinasyon halinde, suda viskoz bir dispersiyon oluşturma özellikleriyle bilinmektedir (Saha ve Bhattacharya, 2010).

Tablo 4.30. Optimum noktada koaservat reolojik özellikleri ve modellenmesi.

| Power-Law modeli     |               | Arrhenius modeli        |               |
|----------------------|---------------|-------------------------|---------------|
| Viskozite, mPas      | 9.66 ± 0.32   | Kt                      | 21.66 ± 0.30  |
| K, Pa.s <sup>n</sup> | 0.010 ± 0.001 | E <sub>a</sub> , KJ/mol | -10.69 ± 0.20 |
| n                    | 0.997         | R <sup>2</sup>          | 0.8577        |
| R <sup>2</sup>       | 0.998         |                         |               |

K, kıvam indeksi; n, akış davranış indeksi; Kt, referans sıcaklıkta kıvam indeksi; E<sub>a</sub>, aktivasyon enerjisi.

Sıcaklığın reolojik özellikler üzerindeki etkisini analiz etmek için, emülsiyon 10 ile 80 °C arasında doğrusal bir sıcaklık artışına tabi tutulmuştur. Sıcaklık artışıyla viskozitede azalma görülmüştür. Sıcaklığın artmasıyla sıvıların ve viskoz gıdaların viskozitesinin azaldığı bilinmektedir. Arrhenius denkleminde elde edilen aktivasyon enerjisi 10.69 kJ / mol olarak bulunmuştur (Tablo 4.30). Daha öncede ifade edildiği gibi, aktivasyon enerjisi yükseldikçe, sıcaklığın sıvıların viskozitesi ve akışkanlığı üzerindeki etkisi de artmaktadır (Sengül vd., 2005).

##### 4.4.4.2. Farklı Kurutma Teknikleriyle Üretilen Tozların Karakteristikleri

Uygun koaservasyon karışımının seçilmesinden sonra püskürtmeli kurutma ve diğer üç teknikle (etüv, mikrodalga ve dondurarak) kurutma uygulanmış ve elde edilen

tozların özellikleri karşılaştırılmıştır. Farklı kurutma teknikleri ile üretilen tozların özellikleri de birbirinden önemli derecede ( $p < 0.05$ ) farklı olmuştur (Tablo 4.31).

Tablo 4.31. Optimum noktada farklı kurutma teknikleri ile üretilen tozların fiziksel ve kimyasal özellikleri.

| Kurutma<br>tekniki | Verim,            | EE,%             | Nem, %          | Su<br>aktivite<br>si | Yoğunluk<br>, g/cm <sup>3</sup> | Carr<br>indeks, % | Çözünür-<br>lük, % |
|--------------------|-------------------|------------------|-----------------|----------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------|
| Püskürtere<br>k    | 60.67 ±<br>5.52c  | 70.19 ±<br>0.73b | 3.02 ±<br>0.08c | 0.180 ±<br>0.005a    | 0.161 ±<br>0.008c               | 44.13 ±<br>0.99a  | 84.93 ±<br>0.90a   |
| Etüv               | 94.91 ±<br>0.86a  | 38.30 ±<br>5.24d | 4.03 ±<br>0.08a | 0.123 ±<br>0.007c    | 0.478 ±<br>0.016a               | 25.60 ±<br>2.61d  | 78.37 ±<br>1.46c   |
| Mikrodalg<br>a     | 89.01 ±<br>3.89b  | 78.52 ±<br>0.81a | 3.14 ±<br>0.17b | 0.167 ±<br>0.018b    | 0.428 ±<br>0.009b               | 29.17 ±<br>0.98c  | 84.37 ±<br>0.86a   |
| Dondurara<br>k     | 93.42 ±<br>2.53ab | 46.36 ±<br>0.25c | 2.80 ±<br>0.12c | 0.091 ±<br>0.009d    | 0.050 ±<br>0.001d               | 41.00 ±<br>1.15b  | 81.33 ±<br>3.88ab  |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

Toz verimi açısından kurutma teknikleri farklılık göstermiştir. Püskürterek kurutma, diğer kurutma tekniklerinden daha düşük toz verimini (% 60) göstermiştir. Etüvde kurutma ardından dondurarak kurutma ve mikrodalga (sırasıyla % 94, 93 ve 89) önemli ölçüde yüksek verim sağlamışlardır. Toz verimi geri kazanımı ve toplam üretimi etkilemektedir. Ancak gözlemlendiği gibi enkapsülasyon yeterliliğine etkisi yoktur. Daha öncede ifade edildiği gibi, püskürtmeli kurutucu birçok bölmeden (kurutma hücresi, siklon ve toplayıcı) oluşur. Bu nedenle, toz üretimi sırasında kayıplar daha fazladır. Birçok çalışmada, diğer tekniklere kıyasla atomizasyon sistemi kullanılarak kurutulan koaservat ve emülsiyon veriminin daha düşük olduğu saptanmıştır (Cano-Higuera vd., 2015a; Rutz vd., 2017; Turchiuli vd., 2005).

Enkapsülasyon yeterliliği (% EE), mikrodalga kurutma (% 78.52) ardından püskürtmeyle kurutmada (% 70.19) yüksek bulunmuştur. Etüvde kurutma en zayıf yeterliliği (% 38.3) göstermiştir. Enkapsülasyon yeterliliği, yüzey likopen içeriğine bağlıdır, yüzey likopen konsantrasyonu ne kadar yüksekse, enkapsülasyon yeterliliği o kadar düşüktür. Aynı emülsiyon preparasyonuna rağmen, kurutma yönteminin likopeni kapsüllemede çok önemli bir rolü olduğu görülebilmektedir.

Nihai kapsüllemenin morfolojik özelliklerinin değişimi, yeterliliklerdeki farklılığın arkasındaki sebep olabilir. Ayrıca, püskürtmeli ve mikrodalgalı kurutma için kurutma işleminin hızı, yeterliliğin artmasını açıklayabilir. Etüv ve dondurarak

kurutma, saatler süren uzun süreçlerdir. Bu süre zarfında, yağ damlacıklarının birleşmesi ve yüzey konsantrasyonları gibi birçok olay meydana gelebilmektedir. Sonuç olarak, homojen olmayan bir yağ dispersiyonu ve zayıf kaplama potansiyeli söz konusudur.

Kısaca, kurutma yöntemleri farklı dehidrasyon mekanizmalarına dayanır, bu nedenle çekirdek malzeme ile duvar matrisi arasındaki etkileşim, bir yöntemden diğerine değişebilir (Cano-Higuera vd., 2015b). Sonuç olarak, ortaya çıkan yeterlilik, kurutma yöntemine ve kullanılan malzemelere sıkı sıkıya bağlıdır (Rutz vd., 2017).

Dondurarak ve püskürtmeyle kurutulanlar daha düşük nem (% 2.8 ve 3) içeriğine sahiptir. Öte yandan, mikrodalga kurutma ve etüvde kurutma sırasıyla % 3.14 ve 4.03 gibi daha yüksek nem içeriği göstermişlerdir. Daha önceki teknikte de değinildiği gibi, mikrodalga ve etüvle kurutma işlemi, ağırlık azalışıyla kontrol edilmekte, sabitleşme eğilimi olduğunda işleme son verilmektedir. Böylece çoğu kez tam bir kuruma ile sağlanamamaktadır.

Su aktivitesi, bilindiği gibi su içeriğinden farklıdır ve burada da su miktarı ile su aktivitesi arasında net bir ilişki görülmemiştir. Dondurularak kurutulan tozlar, en düşük su aktivitesini (0.091) göstermiş, onu etüvde kurutulanlar (0.123) takip etmiştir. Püskürtmeli kurutma beklenmedik bir şekilde en yüksek su aktivitesine sahip (0.180) tozların üretimine yol açmıştır. Hem nem hem de su aktivitesi, üretilen tozların korunması için önemli faktörlerdir. Tabi çok düşük su aktivitesi değerleri lipid oksidasyonu açısından da önemlidir.

Yoğunluk, malzeme özelliklerini ve akışkanlık gibi fiziksel davranışları incelemede kullanılan fiziksel özelliktir. Farklı kurutma teknikleriyle üretilen tozların yoğunluğu birbirinden çok farklı ( $p < 0.05$ ) olmuştur. Etüvde, mikrodalga, dondurarak ve püskürtmeli kurutma için sırasıyla azalan bir şekilde yoğunluk 0.478, 0.428, 0.161 ve 0.050 g/cm<sup>3</sup> olarak bulunmuştur. Dondurarak kurutulan tozun düşük değerleri süngerimsi yapısıyla ilişkilendirilebilir.

Carr indeksi önemli bir akışkanlık varyasyonu ortaya koymuştur. Püskürtmeli kurutma, çok kötü akışkanlığa (% 44) sahip tozlar üretmiş ve ardından dondurarak kurutma (% 41) izlenmiştir. Bu arada, etüvde ve mikrodalgada kurutma, sırasıyla % 25 ve % 29 değerlerinde daha akıcı tozlar üretmişlerdir.

Etüvde kurutulan tozlar en zayıf çözünürlük (% 78) göstermiştir. Bununla birlikte, püskürtmeyle, mikrodalgada ve dondurularak kurutulmuş tozlar anlamlı olarak daha yüksek (>% 81) bulunmuşlardır. Genel olarak, tüm bu tozlarla çözünürlük, literatürde bulunanlar yakındır (Zuanon vd., 2013).

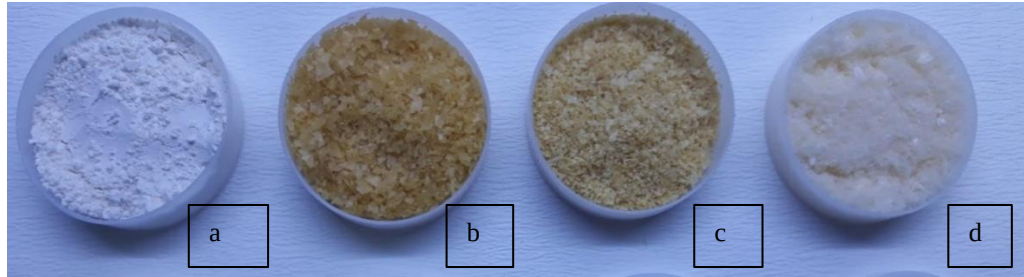
### A. Tozların Rengi

Renk ölçümü, işleme veya depolama sırasında tozlardaki likopenin termal ve oksidatif reaksiyonuyla, kapsüllenme seviyesini ve bozunmasını araştırmanın başka bir yoludur (Pelissari vd., 2016). Farklı tozların renk özellikleri Tablo 4.32 ve Şekil 4.20'de gösterilmiştir.

Tablo 4.32. Koaservasyon ile kapsüllenmiş likopen içeren tozların renk değerleri.

| Kurutma tekniği     | L*            | a*           | b*            | H*            | C*            | ΔE            |
|---------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Kontrol</b>      | 90.42 ± 2.38  | 0.05 ± 0.19  | 4.97 ± 1.11   | 89.76 ± 1.95  | 4.97 ± 1.12   |               |
| <b>Püskürterek</b>  | 89.57 ± 0.87a | 1.19 ± 0.27d | 9.72 ± 0.93c  | 83.09 ± 0.86a | 9.80 ± 0.95c  | 5.00 ± 1.10d  |
| <b>Etüvde</b>       | 63.59 ± 0.77d | 9.22 ± 0.25a | 31.60 ± 0.72a | 73.74 ± 0.25d | 32.92 ± 0.75a | 38.91 ± 0.41a |
| <b>Mikrodalgada</b> | 71.38 ± 0.55c | 7.75 ± 0.13b | 31.99 ± 0.42a | 76.39 ± 0.11c | 32.91 ± 0.44a | 33.93 ± 0.64b |
| <b>Dondurarak</b>   | 76.69 ± 0.99b | 3.60 ± 0.21c | 18.74 ± 0.63b | 79.13 ± 0.30b | 19.08 ± 0.66b | 19.79 ± 0.59c |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.20. Koaservasyonla elde edilen tozların görünüşü: (a) Püskürterek, (b) Etüvde, (c) Mikrodalgada ve (d) Dondurularak kurutulmuş.

Püskürterek kurutulan tozların aydınlık ( $L^*$ ) değerleri, dondurularak kurutulanlardan daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte,  $a^*$  (kırmızılık) ve  $b^*$  (sarılık) değerleri ters eğilim göstermişlerdir. Etüvde kurutma ve ardından mikrodalga kurutma, koyu kırmızımsı tozlar ( $L^* < 71.38$ ,  $a^* > 7.75$ ,  $b^* > 31.6$ ) üretmişlerdir. Son

iki yöntemin ton açısı ( $H^*$ ), püskürtülerek ve dondurarak kurutulan örneklerle kıyasla daha fazla saf kırmızılık göstermiştir

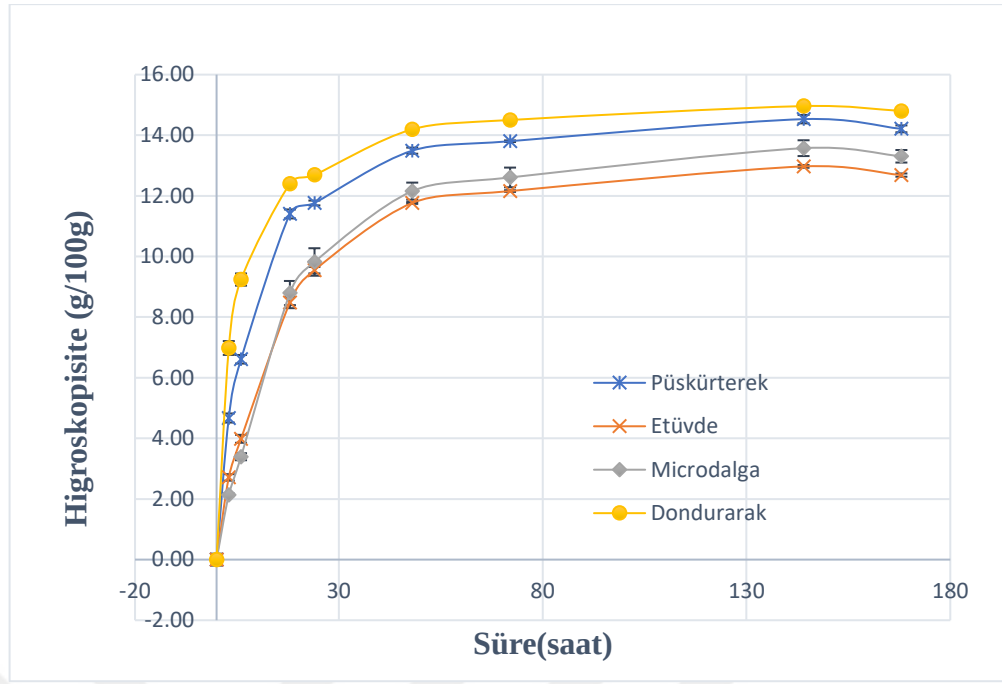
Kroma ( $C^*$ ) değeri, rengin yoğunluğunu ve gözlenen tonun saflığını göstermektedir. Tozların kırmızılık yoğunluğu, dondurarak ve püskürtmeli kurutmaya göre etüv ve mikrodalgada daha fazla saptanmıştır. Elde edilen tozların görünümü (Şekil 4.20), bariz şekilde renk değişimini göstermektedir. Ho vd. (2020), kurutma tekniklerinin (püskürtmeli, dondurarak ve etüvde kurutma) ksanton koaservatin renk koordinatları üzerindeki etkisini çalışmıştır. Püskürtmeli kurutma çok yüksek bir sıcaklık kullanılmasına rağmen ( $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) elde edilen toz diğer tekniklerden çok farklı bulunmamıştır.

Kurutma yönteminin renk üzerindeki etkisini saptamak için, kontrol numunesi (likopen içermeyen, püskürtmeyle kurutulmuş toz) ile farklı kurutma işlemleri arasında  $\Delta E$  değeri hesaplanmış ve karşılaştırma yapılmıştır. Özellikle etüvde kurutulan tozlarda yüksek değerler elde edilmiş ( $\Delta E=38.91$ ), ardından mikrodalga ( $\Delta E=33.93$ ) ve dondurarak kurutulan tozlar ( $\Delta E=19.79$ ) takip etmiştir. Püskürtmeli kurutma, diğerlerine göre çok düşük değer ( $\Delta E=5$ ) göstermiştir. Püskürtmeli kurutmada kontrolle likopen içeren arasında düşüğe olsa fark olması likopene atfedilebilir. Düşük enkapsülasyon yeterliliği, yüksek likopen yüzey konsantrasyonunu göstermekte, bu da bir taraftan nihai tozların kırmızılığını artırmaktadır. Püskürtmeyle kurutma, yağda dağılmış likopeni kamufle etmek veya kelimenin tam anlamıyla kapsüllemek için etkili olmuştur.

## **B. Higroskopisite**

Tozların higroskopisiteyi, bir hafta (168 saat) boyunca % 75 RH altında  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmek yoluyla saptanmıştır. Elde edilen kinetik sonuçlar Şekil 4.21 ve Tablo 4.33'de verilmiştir.

Şekil 4.21'den başlayarak, tüm tozlar, ilk gün (24 saat) boyunca hızla nem almıştır. Yaklaşık 3 günden sonra alışı hızı yavaşlayıp platoya ulaşmıştır. Tozlar, 100g da 12-15g arasında nem alarak dengeye ulaşmıştır. Dondurarak kurutulan, ardından da püskürtülerek kurutulan tozlar, yüksek hız ve yüksek denge değerleri göstermişlerdir.



Şekil 4.21. Koaservasyon uygulanan ve farklı tekniklerle kurutulan tozların higroskopisite kinetiği.

Tablo 4.33. Koaservasyon uygulanan ve farklı tekniklerle kurutulan tozların higroskopiklik ve su kazanımı modellemesi (168 saat) sonuçları.

| Kurutma<br>tekniki | $a_w$ (168<br>saatte) | Model   | Parametreler |       | $R^2$ | Düz.<br>$R^2$ | RMSE  | Meq<br>g/100g db |
|--------------------|-----------------------|---------|--------------|-------|-------|---------------|-------|------------------|
|                    |                       |         | a            | b     |       |               |       |                  |
| Püskürterek        | $0.724 \pm 0.001a$    | Peleg   | 43.33        | 6.63  | 0.996 | 0.995         | 0.003 | 15.08            |
|                    |                       | Weibull | 0.59         | 12.73 | 0.993 | 0.992         | 0.005 |                  |
| Etüvde             | $0.719 \pm 0.002b$    | Peleg   | 87.87        | 7.07  | 0.995 | 0.994         | 0.004 | 14.28            |
|                    |                       | Weibull | 0.66         | 24.49 | 0.981 | 0.978         | 0.007 |                  |
| Mikroalga          | $0.715 \pm 0.004b$    | Peleg   | 96.39        | 6.63  | 0.990 | 0.988         | 0.006 | 14.28            |
|                    |                       | Weibull | 0.84         | 22.05 | 0.987 | 0.985         | 0.006 |                  |
| Dondurarak         | $0.703 \pm 0.000c$    | Peleg   | 24.85        | 6.60  | 0.998 | 0.998         | 0.002 | 15.33            |
|                    |                       | Weibull | 0.50         | 7.41  | 0.998 | 0.998         | 0.002 |                  |

$a_w$ : su aktivitesi, Meq: dengede nem miktarı, \* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

Higroskopisite kinetiği, Peleg ve Weibull modellerine uyarlanmış ve elde edilen parametreler Tablo 4.33 'te verilmiştir. Peleg ve Weibull modelleri deneysel kinetiği en iyi şekilde açıklayan modeller olmuştur ( $R^2 > 0.985$ , RMSE  $< 0.007$ ). Peleg denkleminde "b" parametresi denge nemini tahmin etmede kullanılmıştır. "a" ise, ilk saatler için nem alımını temsil eden parametredir. İki modelde de her iki parametre (a,

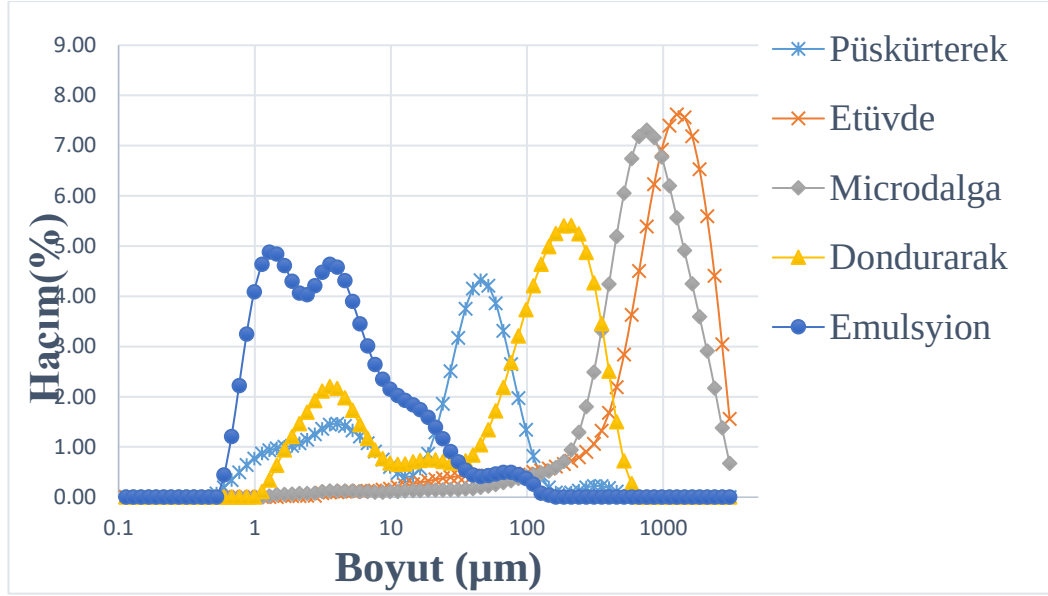
b) farklı tozlar arasında çok değişkenlik göstermiştir. Etüv ve mikrodalgada kurutulan tozlar yüksek değerler bulunmuştur. Bu arada, püskürtmeyle kurutulan, ardından dondurularak kurutulan toz, en düşük değerleri göstermiştir.

Weibull denklemindeki düşük "b" parametresi, toz tarafından yüksek nem alım kapasitesini ifade etmektedir. Dondurarak kurutulan tozların en yüksek nem alım kapasitesine sahip olduğu onu püskürtmeyle kurutulanların izlediği tespit edilmiştir. Nem alma kapasitesi, tahmini denge noktalarına olumlu şekilde yansımıştır. Dondurarak kurutulan tozlar, 15.33g nem seviyesinde bir denge göstermiştir.

Elde edilen higroskopluk sonuçları, kaplayıcı olarak gam arabik ve jelatinin kullanıldığı çalışmalarda bildirilenlere yakındır. Bir çalışmada, 100g toz için 10.73 ile 13.43 g (Rocha-Selmi vd., 2013a), diğerinde 33.46 ile 34.10 g (Comunian vd., 2013) su alımı bildirilmiştir. 168 saat sonra tozların su aktivitesi yükselip önemli ölçüde birbirinden farklı olmuştur. Püskürtmeyle kurutulan tozlar, daha yüksek değerler göstermiştir. Sonuç olarak, tozun higroskopik davranışı temel olarak kurutma yöntemi ve sonuçta elde edilen toz yapısı ile ilgilidir. Püskürtme ve dondurarak kurutma, daha fazla higroskopik yetenek sağlayan daha gözenekli (düşük yığın yoğunluğu) bir toz üretirler.

### **C. Partikül Boyutu**

Optimum nokta için hazırlanan koaservatı ve tozların partiküllerinin ortalama boyutları Şekil 4.22'de verilmiştir. Hazırlanan koaservasyon, 1 ile 10 µm aralığında küçük damlacıklardan (su fazında dağılmış yağ) oluşmuştur. Bu damlacıklar, 1.5 µm ve 4 µm boyutunda iki keskin tepe göstermiştir. Küçük boyutlar, iyi bir homojenizasyonun sonucudur. Işık mikroskobu altındaki görüntü (Şekil 4.25) (×100), nanoemülsiyonların homojen boyutunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.22. Koaservat ve tozlarının partikül boyutu.

Tozlar, farklı boyut ve yükseklikte pikler vermiştir. Püskürtmeyle kurutulmuş toz, 52  $\mu\text{m}$  'de yüksek bir pik ve 0.5  $\mu\text{m}$  ile 12  $\mu\text{m}$  arasında küçük bir tümsek oluşturmuştur. Küçük çaplı küresel parçacıklar, muhtemelen koaservat damlacıklarına ve püskürtme nozelinin mikronizasyondan kaynaklanmıştır. Bununla birlikte, kurutma işlemi sırasında olası bir aglomerasyon meydana gelebilmektedir. SEM görüntüleri (Şekil 4.26), mikropartiküllerin morfolojik ve dağılımını net bir şekilde göstermektedir. Dondurularak kurutulmuş toz ayrıca, 4  $\mu\text{m}$ 'de küçük, 200  $\mu\text{m}$ 'de yüksek pik vermiştir. Etüvde ve mikrodalgada kurutulmuş tozlar, sırasıyla 750  $\mu\text{m}$  ve 1450  $\mu\text{m}$  'de tek yüksek pikler vermiştir. Son üç kurutma yönteminde, analiz için homojen bir şekilde öğütülmeye çalışılmış ve büyük pullardan oluşmuştur. Bu sonuçlar, üretim tekniklerinin etkisini göstermektedir.

Dondurularak kurutulmuş tozlar, etüv ve mikrodalgada kurutulanlara göre daha kırılgan olduğu için küçük parçacık boyutuna da sahip olmuştur. SEM görüntüleri (Şekil 4.26), etüvde ve mikrodalgada kurutma için paketli yapı sergilemekte ve dondurarak kurutma için süngerimsi zayıf bir yapı ile sonuçlanmaktadır. Ho vd. (2020), kurutulmuş koaservatlıların değişik dağılımının değişmesini kaydetmişlerdir. Kullanılan kurutma yöntemlerinin (püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma ve fırında kurutma) parçacık boyutu dağılımını etkilediğini de bildirmişlerdir.

#### D. Tozların Antioksidan Aktivitesi (DPPH, ABTS)

Farklı tekniklerle elde edilen tozların antioksidan aktivitesi, DPPH radikalini giderme etkisi açısından önemli bir farklılık ( $p>0.05$ ) göstermemiştir (Tablo 4.34). Bununla birlikte, ABTS serbest radikalini gidermede, kurutma yöntemleri etkili olmuştur ( $p<0.05$ ). Mikrodalga ve dondurarak kurutma kullanılarak üretilen tozların ABTS değerleri 0.84 ve 0.78 mM TE/g olarak belirlenmiş ve diğerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. ABTS sonuçlarından, kurutma yönteminin (sıcaklık, süre) nihai ürünün antioksidan aktivitesi üzerine bir etkisi olduğu görülmektedir. Hazırlama teknikleri, antioksidan aktivitenin korunmasında önemli bir role sahiptir. Literatürde, dondurarak kurutmaya tabi tutulan üzüm ekstraktı mikrokapsülünün DPPH ile test edilen antioksidan kapasitesinin, püskürtmeli kurutmaya göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Kuck ve Noreña, 2016).

Likopenin yüksek temizleme kapasitesi, mikrokapsüllerdeki konsantrasyonuna güçlü bir şekilde bağlanmaktadır (Souza vd., 2018). Ayrıca, gac yağı kapsüllerinin antioksidan kapasitesinin, büyük ölçüde yağdaki karotenoidlerden kaynaklandığı bulunmuştur (Chuyen vd., 2019). Bu çalışmada, püskürterek kurutulan tozlarda yüksek likopen enkapsülasyon yeterliliğine rağmen, bu işlem sırasında bir miktar likopen konsantrasyonunun kaybı ile ilgili olabilir. Benzer kayıplar literatürde de bildirilmiştir. Kapsüllenmiş gac yağının antioksidan kapasitesi, besleme hızından ve esas olarak püskürtmeli kurutma işleminin giriş sıcaklığından etkilendiği rapor edilmiştir (Chuyen vd., 2019).

Tablo 4.34. Farklı kurutma teknikleriyle kurutulan tozların antioksidan aktivitesi.

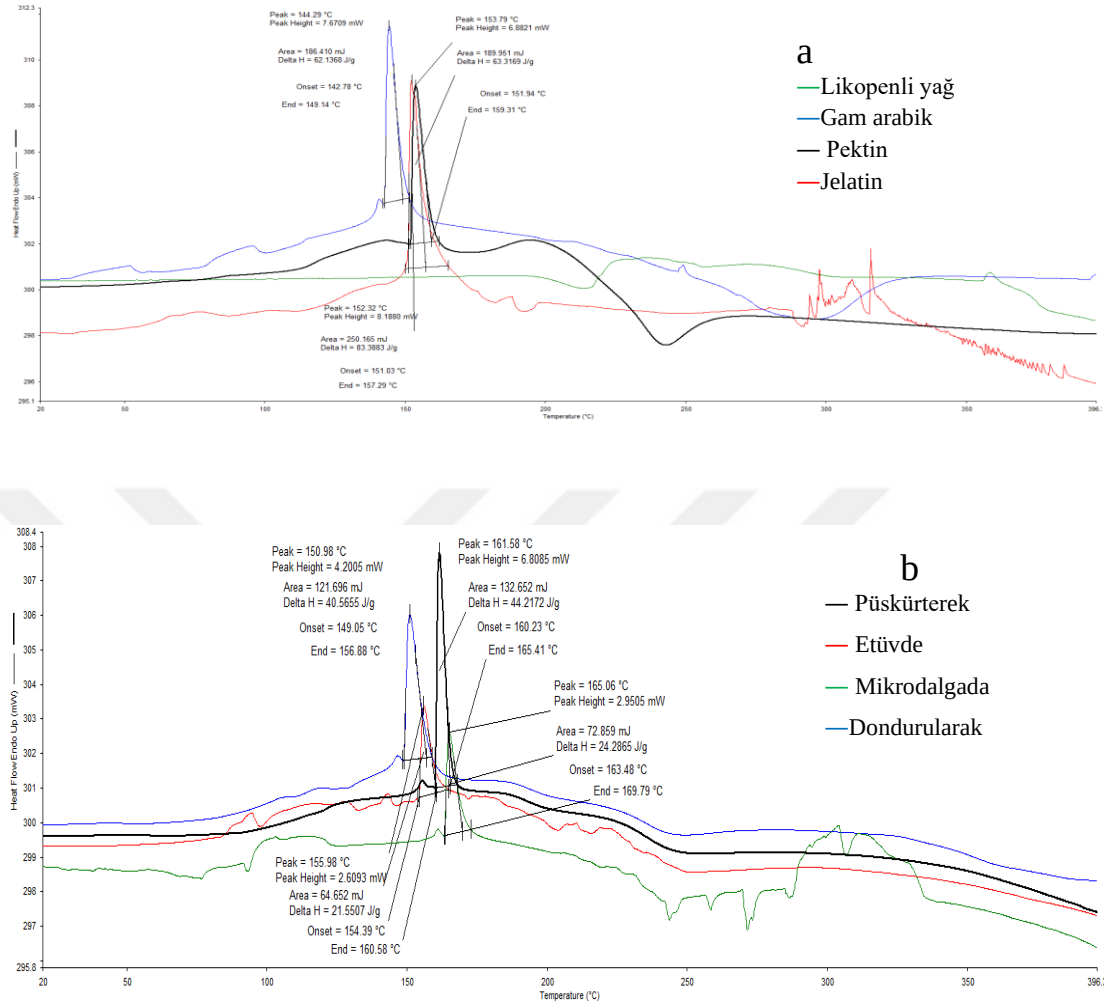
| Kurutma tekniği | ABTS, mM TE / g | DPPH, mM TE / g |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| Püskürterek     | 0.70 ± 0.1b     | 0.50 ± 0.05a    |
| Etüvde          | 0.70 ± 0.06b    | 0.52 ± 0.04a    |
| Mikrodalga      | 0.84 ± 0.07a    | 0.48 ± 0.04a    |
| Dondurarak      | 0.78 ± 0.04ab   | 0.45 ± 0.03a    |

\* Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ( $p>0.05$ ).

#### 4.4.4.3 Termal Özellikler (DSC)

DSC analizi, kapsüllenmiş biyoaktif bileşiklerin özelliklerini araştırmada kullanılmakta, mikropartiküllerin erime davranışı, kristalleşme durumu ve termal stabilitesi hakkında bilgi vermektedir (Zardini vd., 2018). Likopen içeren yağ, ham

duvar malzemeleri ve kurutulmuş numuneler için DSC'den elde edilen sonuçlar Şekil 4.23 (a, b) 'de verilmiştir.



Şekil 4.23. Ham maddelerin (a) ve elde edilen koaservasyon tozlarının (b) DSC kurveleri.

Tüm duvar malzemeleri, gam arabik, jelatin ve pektin için sırasıyla erime noktalarını gösteren 144, 152 ve 154 °C'de endotermik keskin bir pik vermişlerdir. Bu duvar malzemeleri 250 ile 350 °C arasında ekzotermik pikler de vermişlerdir. Gözlenen bu geçiş, muhtemelen kaplama malzemesinin depolimerizasyonundan kaynaklanmaktadır (Ballesteros vd., 2017). Kristal likopen, 169 ile 187 °C arasında karakteristik bir erime noktasına sahiptir (Jhan ve Pethe, 2020; Dahong Li vd., 2018). Ancak, likopen içeren yağ, endotermik pikler vermemiş, sadece 200-230 °C arasında ekzotermik bir tümsek oluşturup yavaşça taban çizgisine geri dönmüştür. Erime piklerinin olmaması, likopenin açık amorfitesini ve lipid fazdaki dağılımını göstermektedir.

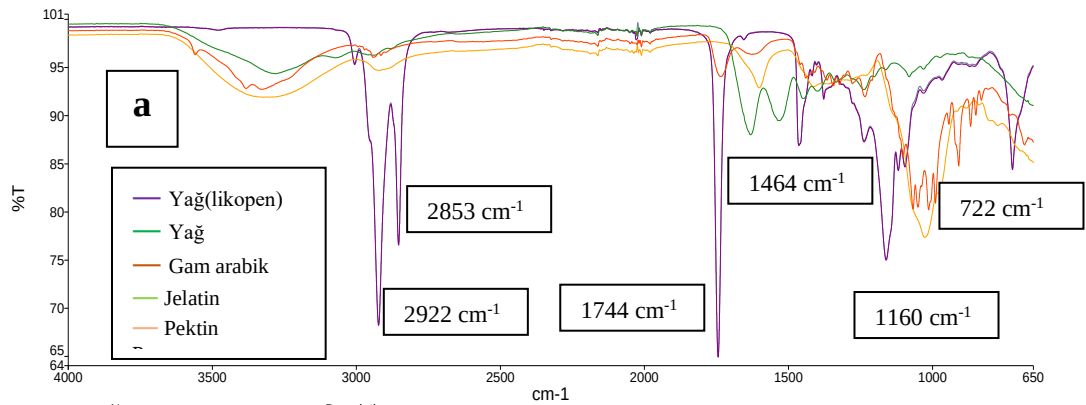
Ham maddelere kıyasla, püskürterek kurutulan kompleksin verdiği pik (165 °C) ve ardından mikrodalgada kurutulan kompleks (161 °C), saf duvar malzemelerinden daha yüksek sıcaklıkta erime göstermiştir. Bu termal direnç ve çekirdek malzeme profilinin kaybolması, verimli bir kompleks oluşumuna anlamını taşımaktadır. Pikin yüksekliği, muhtemelen morfolojik ve kristal durumuyla yakından ilişkilidir. Hidrofobik fraksiyonun kaplanması ve homojen sistemin oluşumu, yüksek tutulma kapasitesiyle uyum içindedir (Dahong Li vd., 2018; Rutz vd., 2017; Zhao vd., 2019).

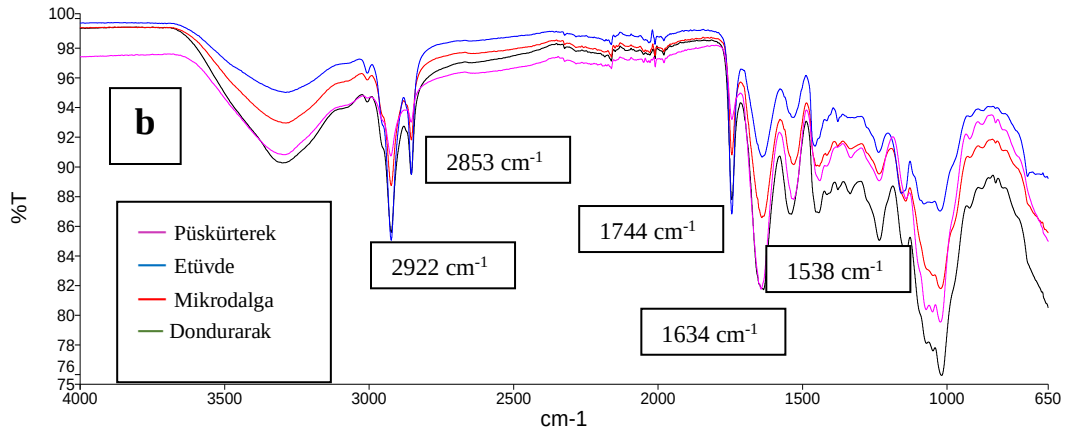
Etüvde ve dondurarak kurutulan kompleksler, sırasıyla 156 ve 151 °C'de pik vermişlerdir. Bu iki teknik, püskürtme ve mikrodalga tekniklerine kıyasla daha az termal kararlı tozlar ürettiğini anlamına gelir.

Buna rağmen, tüm tozlar, ortak malzemelere özgü bir sıcaklık değişimi göstermişlerdir. Kompozisyonun ötesinde, kurutma yöntemlerinin çeşitliliği mikrokapsüllerin termal profili üzerinde oldukça etkilidir (Ballesteros vd., 2017; Rutz vd., 2017).

#### 4.4.4.4. Fourier Transform İnfrared (FTIR)

Kurutulmuş tozların ve kontrol gruplarının (yağ, likopen ile zengin yağ, jelatin, pektin ve gam arabik) FTIR spektrumlarını Şekil 4.24'te verilmiştir. FTIR analizi, kompleks koaservasyonla hazırlanan ve farklı tekniklerle kurutulan tozların çekirdek malzemenin (yağ/likopen) kaplanması hakkında bize fikir vermektedir.





Şekil 4.24. Ham maddelerin(a) ve elde edilen koaservasyon tozlarının (b) FTIR spektrumları.

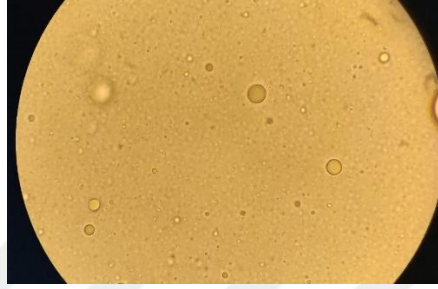
Tüm tozlar, 4000 ve 600  $\text{cm}^{-1}$  arasında aynı absorbands şeklini, küçük bir yoğunluk varyasyonu ile göstermiştir. Yağ fazı 2922 ve 2853  $\text{cm}^{-1}$ 'de gibi C-H gerilme titreşim bantlarına karakteristik olanlar (Pérez-Masiá vd., 2015), 1744  $\text{cm}^{-1}$ 'de, C = O grubu trigliseridlere özgü (Dahong Li vd., 2018; Pérez-Masiá vd., 2015) ve orta bir pik, 1160  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O titreşimlerine karşılık gelenler (Jhan ve Pethe, 2020) şeklinde birçok bant vermiştir. 1464 ve 722  $\text{cm}^{-1}$ 'de diğer küçük bantlar da gözlenmiştir. Koaservasyon ve kurutma işleminden sonra, yağ fazına karşılık gelen 1464  $\text{cm}^{-1}$ 'den küçük bantlar, kapsülleme ajanlarının pikleriyle tamamen entegre edilmiştir. Bu arada 2922  $\text{cm}^{-1}$ , 2853  $\text{cm}^{-1}$  ve 1744  $\text{cm}^{-1}$ 'deki bantların yoğunluğunda azalış kaydedilmiştir. Bununla birlikte, tozlarda, bazı bantların yoğunluğu artarken (1634  $\text{cm}^{-1}$  ve 1538  $\text{cm}^{-1}$ 'de), 1550 ile 1050  $\text{cm}^{-1}$  arasında yeni bantlar gözlenmiştir. Dahası, kaplayıcıların aralarındaki olası etkileşimlerden kaynaklanan bazı değişiklikler olmuştur. Pektin ve gam arabik, karboksil grupları ve jelatin amin gruplarıyla elektrostatik etkileşimlere girerek yeni bir amid verebilmektedir. Son etkileşim, bir amidin karakteristiği olan 1634  $\text{cm}^{-1}$  ve 1538  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki artan yoğunlukla ilişkili olabilir (García-Saldaña vd., 2016). Bu sonuç, çekirdek malzemeyi kapsüllemedeki başarının bir ölçütü olabilir.

Kurutma teknikleri, büyük bantlarda bir yoğunluk varyasyonu göstermiştir. 2922  $\text{cm}^{-1}$ , 2853  $\text{cm}^{-1}$ , ve 1744  $\text{cm}^{-1}$ 'de çekirdek malzemeyi temsil etmektedir. Pérez-Masiá vd. (2015) tarafından bildirildiği gibi, enkapsülasyon yeterliliği FTIR spektrumuyla ilişkilendirilebilir. Püskürterek ve mikrodalgada kurutulmuş tozlar, etüvde ve dondurarak kurutulmuş tozlara kıyasla bu bantlarda düşük yoğunluk sergilemiştir.

Düşük yoğunluk, çekirdek malzemenin kapsülleme matrisine iyi bir şekilde dahil edildiği anlamına gelmektedir.

#### 4.4.4.5. Işık Mikroskobu ve SEM Görüntüleri

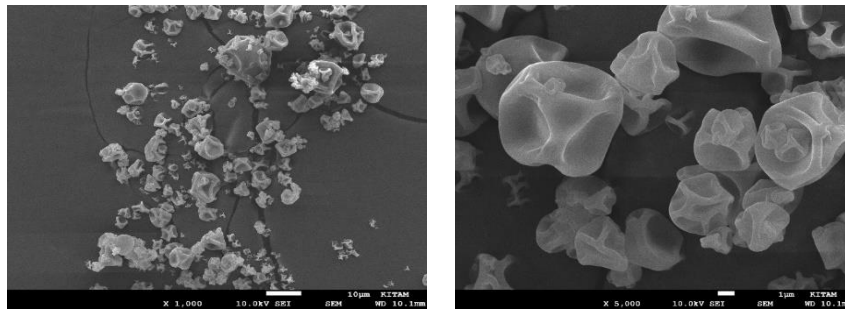
Optimum noktada hazırlanan koaservat, ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 4.25). Mikrodamlacıklar zor görülebilirken, toplamda sadece birkaç büyük damlacık görülmüştür. Bu, homojenizasyonun başarısını ve su içinde yağ emülsiyonunun oluşumunu göstermektedir.



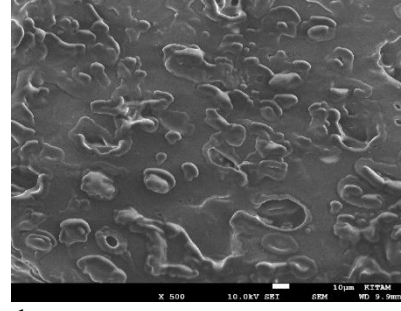
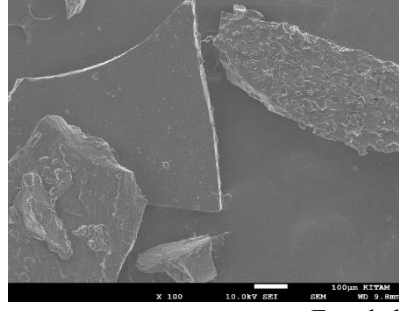
Şekil 4.25. Optimal nokta koaservasyonun ışık mikroskobu görüntüleri (x100).

Farklı teknikle kurutulmuş kapsüllerin morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu ile incelenmiş ve elde edilen mikrograflar Şekil 4.26'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, kurutma teknikleri arasında morfolojik farklar vardır.

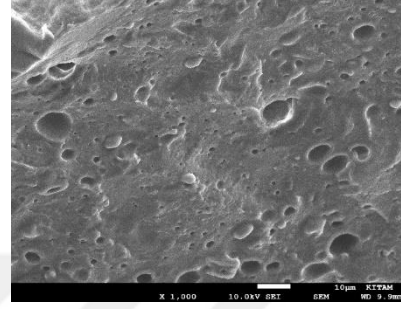
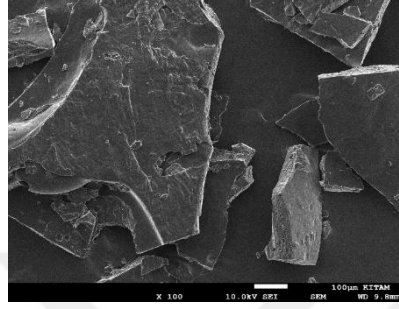
Püskürtmeli kurutmayla, üretilen mikropartiküller büzülmüş yüzeylere sahip ve küreseldir. Şekil 4.26'de küçük aglomerasyonlar ve çeşitli partikül boyutları gözlenmiştir. Püskürtmeli kurutma, sıvıların atomizasyon ile mikro ölçekli damlacıklar haline getiren bir işlemdir. Oluşan damlacıkların sıcak hava akımının temasıyla nemlerini serbest bırakıp katı küresel parçacıklar dönüşür. Büzülme, koaservatın ana bileşenini (>% 85) temsil eden suyun buharlaşması nedeni olur. Bu sonuçlar, püskürtmeli kurutma ve atomizasyon sistemleri ile mikropartikül üreten birçok çalışma ile uyumludur (Cano-Higuera vd., 2015b; Rutz vd., 2017).



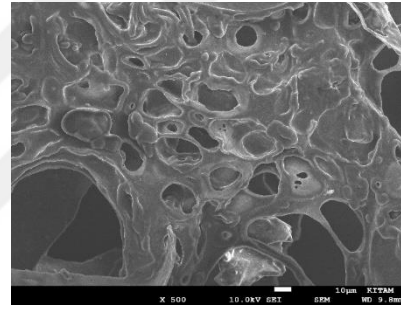
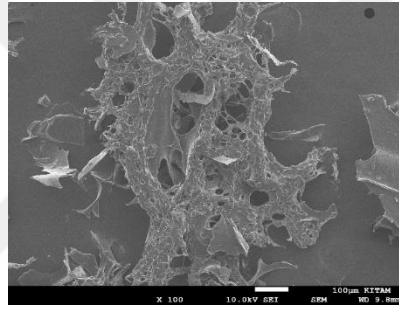
Püskürtmeyle kurutulmuş toz



Etüvde kurutulmuş toz



Mikrodalgada kurutulmuş toz



Dondurarak kurutulmuş toz

Şekil 4.26. Koaservasyon ile kapsüllenmiş ve farklı tekniklerle kurutulmuş tozlarının SEM görüntüleri.

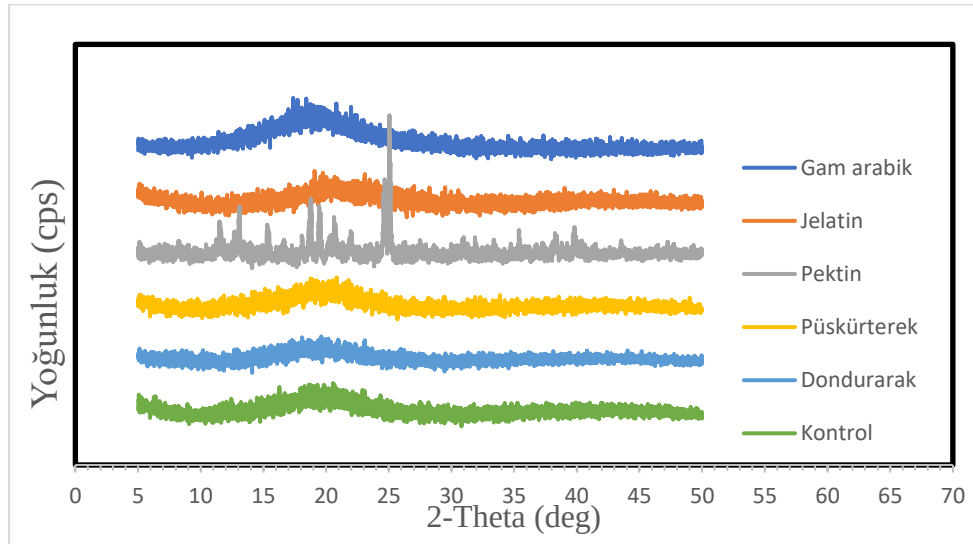
Dondurarak kurutulmuş tozlar, düzensiz gözenek boyutuna sahip sünger gibi bir morfoloji sergilemiştir. Yakından incelendiğinde ise, pürüzsüz bir yüzey ve sınırlı sayıda küresel şekilli parçacık dikkat çekmektedir (Şekil 4.26). Koaservasyon tekniğinde farklı çekirdek ve duvar malzemelerinin kullanıldığı birkaç çalışmada benzer görüntüler rapor edilmiştir (Gomez-Estaca vd., 2016; Rutz vd., 2017). Dondurarak kurutma işlemi, oluşan koaservatın parçalanmasından ve elektrostatik bağların zayıflamasından sorumludur. Bu nedenle, çekirdek malzemenin dahil edilmesi önemli ölçüde azalır (Silva vd., 2012b).

Koaservatın etüvde ve mikrodalgada kurutulmasıyla çok büyük pullar üretilmiştir. Diğer teknikte de değinildiği gibi, analiz için bu tozlar öğütülmüştür. Her iki yöntem de kırılmış cam benzeri yapıya sahip küçük pullar gözlenmiştir. Etüvde

kurutulmuş numunelerin yüzeyinde çıkıntılar ve birkaç gözenek görülmüştür. Ancak, mikrodalga işlemi, yağ içermesi gereken pürüzsüz dış ve küresel yanal boşluklarla sonuçlanmıştır. Kurutma yöntemleri, kurutulmuş emülsiyonların son mikroskopik ve makroskopik yapısına müdahale ettiğini kanıtlanmıştır (Cano-Higuera vd., 2015b; Ho vd., 2020). Bu iki teknikte de kurutma işleminde, su ve gaz kabarcıkları buharlaşmak için yüzeye göç ediyor gibi görünmekte ve sonunda daha tabakalı yapılar meydana gelmektedir. İşlemin mikrodalga kurutmaya yüksek hızı, yapının içinde muhtemelen daha fazla yağ damlası tutmuştur. Tam tersine, etüvde kurutmanın yavaş olması, yağ damlacıklarının olası birleşmesi ve işlem sırasında yüzey göçü mümkündür. Püskürtmeli kurutma ile elde edilen homojen küresel şekiller ve mikrodalga ile olan pullar yüksek yağ yakalamak için en iyi formlar gibi görünmektedir. Diğer yöntemlerle elde edilenler, yüksek bir enkapsülasyon yeterliliği sağlamak için elverişli değildi.

#### 4.4.4.6. X-Işını Kırınım (XRD)

XRD analizi, daha öncede ifade edildiği gibi, tozların kristalliklerini veya amorf hallerini incelemek için kullanılmaktadır. Şekil 4.27 de polimerlerin (gam arabik, jelatin ve pektin), likopen içeren tozların (püskürterek ve dondurarak kurutulan) ve kontrolün (likopen içermeyen püskürterek kurutulan) XRD spektrumlarını göstermektedir. Yalnız pektin spektrumu, 25 °'de yüksek bir pik ve 2 °'de diğer küçük dağılmış pikleri göstermiştir. Bu polimerin kristallik durumunu ifade etmektedir.



Şekil 4.27. Koaservasyon ve farklı kurutma tekniğiyle üretilen tozların ve kontrol numunesinin X ışını kırınım spektrumları.

Pektin dışında tüm XRD spektrumları belirgin bir pik göstermemiş, sadece 10 ° ile 25 ° arasında geniş tek bir tümsek görüntüsü vermiştir. Bunun anlamı, tüm numunelerin amorf bir malzeme olduğu, pektinin kristal formunun koaservasyondan sonra değiştiği veya gömüldüğüdür. Bu çalışmanın bulguları, daha önce bulundu ve değinildiği gibi likopen için başarılı bir kapsülleme sisteminin oluşumunu kanıtlayabilir.

#### 4.4.4.7. Stabilité Testleri

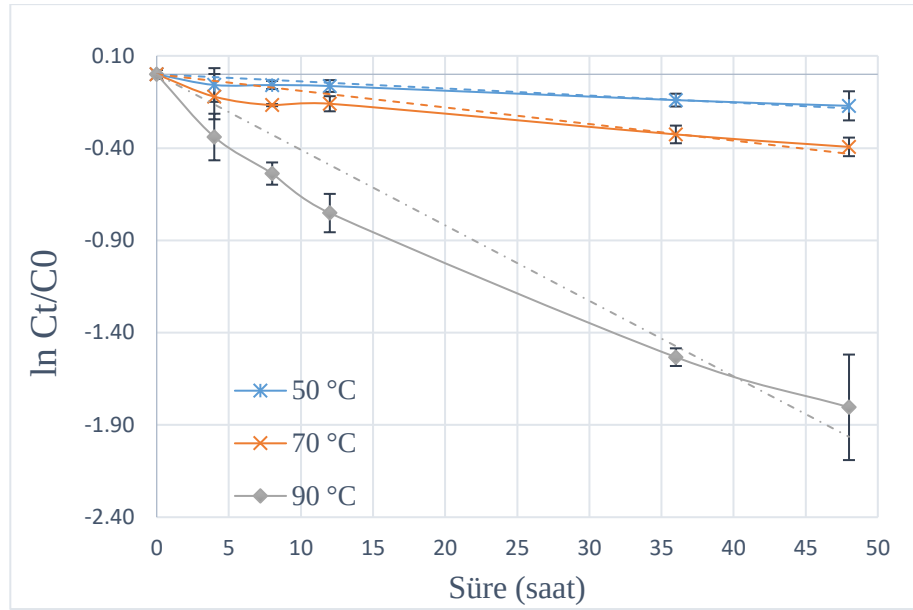
##### A. Termal Degradasyon Kinetikleri

Püskürtmeyle kurutulmuş koaservasyon ile elde edilen likopen tozu, 50, 70 ve 90 ° C'nin altındaki degradasyon kinetiği çıkartılmış, sonuçlar Şekil 4.28 ve Tablo 4.35'te verilmiştir.

Tablo 4.35. Püskürterek kurutulan koaservat tozun termal degradasyonunun kinetik ve termodinamik parametreleri.

| Sıcaklık, ° C | K, 10 <sup>-3</sup> .<br>saat <sup>-1</sup> | R <sup>2</sup> | t <sub>1/2</sub> ,<br>saat | E <sub>a</sub> ,<br>kJ/mol | ΔG,<br>kJ/mol | ΔH,<br>kJ/mol-k | ΔS, 10 <sup>-3</sup><br>kJ/mol-k |
|---------------|---------------------------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|---------------|-----------------|----------------------------------|
| 50            | 3.80                                        | 0.9488         | 182.41                     | 56.34                      | 92.29         | 53.71           | -119.39                          |
| 70            | 9.00                                        | 0.9379         | 77.02                      |                            | 95.76         | 53.55           | -123.02                          |
| 90            | 40.90                                       | 0.9738         | 16.95                      |                            | 97.04         | 53.38           | -120.21                          |

Şekil 4.28 'de görüldüğü gibi, sıcaklığın 50'den 90 °C'ye çıkarılmasıyla degradasyon hızı artmıştır. 90 °C sıcaklık uygulaması reaksiyonu önemli ölçüde artırmıştır. Uzun bir ısıtma süresi, likopenin degradasyonunu, özellikle son saatlerde (84 saat), birçok kat daha fazlalaştırmıştır.



Şekil 4.28. Püskürterek kurutulmuş koaservat tozlarının farklı sıcaklıklarda termal degradasyon kinetiği.

Likopen degradasyonu, birinci dereceden reaksiyon hız kinetiğine uymuştur. Elde edilen hız sabiti (K), 50, 70 ve 90 ° C sıcaklık için sırasıyla, 3.8 saat<sup>-1</sup>, 9.00 saat<sup>-1</sup> ve 40.90 saat<sup>-1</sup> olmuştur. Kapsüllenmiş antioksidanların ve karotenoidlerin termal degradasyonu üzerine yapılan çalışmalar, reaksiyonun birinci dereceden kinetik denkleminde uyduğunu ve hız sabitinin sıcaklık ve süreden çok etkilendiğini göstermiştir (Henry vd., 1998; Lago ve Noreña, 2017). Yüksek sıcaklık uygulaması likopen mikrokapsüllerinin yarı ömrünü kısaltmıştır. Yarı ömür; 90 ° C'de 17 saat, 70 ° C'de 77 saat ve 50 ° C'de 182 saat olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı, likopenin yüksek sıcaklıklarda düşük stabilite gösterdiğidir. Karotenoidlerin degradasyon reaksiyonu 50 °C'nin altında başladığı ve 80 °C'den itibaren hızlandığı bildirilmiştir (Ariahu vd., 2021; Henry vd., 1998).

Likopenin degradasyonu için gerekli aktivasyon enerjisi 56.34 kJ / mol olarak bulunmuştur. Bu enerji, likopen içeren yağda saptanandan (24.61 kJ / mol) iki kat daha yüksektir. Bunun anlamı, üç polimer (jelatin, pektin ve gam arabik) kullanılarak koaservasyon yoluyla kapsüllemenin, termal etkiyi önemli ölçüde azalttığıdır.

Aktif ve reaktan durumu arasındaki farkı vurgulayan termodinamik parametreler Tablo 4.35'te verilmiştir. Yağa benzer şekilde, tozun  $\Delta G$  ve  $\Delta H$ 'si pozitif değerler göstererek degradasyonun kendiliğinden olmayan bir endotermik reaksiyon olduğu saptanmıştır. Bu arada,  $\Delta S$ 'nin negatif değerleri (-119 ila -123.10<sup>-3</sup> KJ / mol-k),

reaksiyonun entropik olarak elverişsiz olduğunu ve reaktiflerden yapısal olarak daha organize olduğunu açıklamaktadır (Ariahu vd., 2021). Düşük değerler, jelatin, pektin ve gam arabik polimerler kullanılarak koaservasyon yoluyla kapsüllenmiş likopenin yüksek stabilitesini yansıtır. Genel olarak, önceki çalışmalar, karotenoidlerin farklı teknikler ve polimerlerle kapsüllenmesinin etkinliğini kanıtlamıştır (Ariahu vd., 2021).

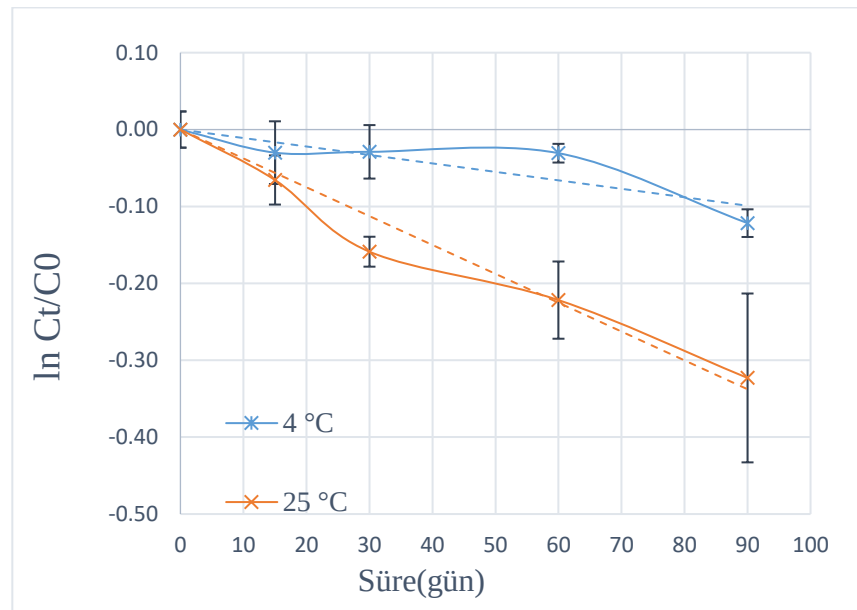
### B. Depolama Stabilitesi

Kapsüllenmiş likopenin depolama stabilitesi, 4 ve 25 °C'de 90 gün boyunca izlenmiştir. Degradasyon kinetiğinin sonuçları, Tablo 4.36 ve Şekil 4.29'da verilmiştir.

Şekilden de görüldüğü gibi, 4 °C'de depolamada çok az bir degradasyon saptanmış, bu oran, sıcaklık 25 °C'ye çıkınca artmıştır. Depolama süresi arttıkça, iki sıcaklık arasındaki fark çok daha net izlenmiştir.

Tablo 4.36. Koaservasyon ile kapsüllenmiş likopen tozunun (püskürtülerek kurutulmuş toz) depolanması sırasında kinetik ve termodinamik parametreleri.

| Sıcaklık, °C | K, 10 <sup>-3</sup> gün <sup>-1</sup> | R <sup>2</sup> | t <sub>1/2</sub> , gün | E <sub>a</sub> , kJ/mol | ΔG, kJ/mol | ΔH, kJ/mol-k | ΔS, 10 <sup>-3</sup> kJ/mol-k |
|--------------|---------------------------------------|----------------|------------------------|-------------------------|------------|--------------|-------------------------------|
| 4            | 1.1                                   | 0.888          | 630.13                 | 39.68                   | 81.60      | 37.42        | -159.40                       |
| 25           | 3.8                                   | 0.987          | 182.41                 |                         | 84.95      | 37.25        | -159.99                       |



Şekil 4.29. Koaservasyonla kapsüllenmiş püskürtmeyle kurutulmuş tozların 4 °C ve 25 °C'deki likopen degradasyon kinetiği.

Likopenin degradasyonu doğrusal bir eğilim göstermiş ve birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygun azalış göstermiştir. Degradasyon hızı sabiti (K), 4 ve 25 °C'de sırasıyla  $1.1 \cdot 10^{-3} \text{gün}^{-1}$  'ten  $3.8 \cdot 10^{-3} \text{gün}^{-1}$  'e yükselmiştir.

25 °C'de likopen mikropartiküllerinin yarı ömrü 182 gün bulunmuştur. Bununla birlikte, düşük sıcaklıkta (4 °C), bu süre 630 güne kadar uzamıştır. Böylece, 25 °C'de depolamadan 3 kat daha düşük bir degradasyon oranı vermiştir. Literatürde likopen kapsülleme sistemleri için benzer sonuçlar bildirilmiştir. Kapsüllenmiş likopenin muhafazasının 4 °C'de 25 °C'den daha uzun olduğu bulunmuştur (Rocha-Selmi vd., 2013a; Rocha vd., 2012). Sıcaklık artışı, renk bozulması ve degradasyon reaksiyonlarının hızlandırmaktadır. Kapsülleme dışında korumak için, soğuk koşullarda depolama karotenoidlerin korumasını ve stabilitesini garanti etmektedir (Chuyen vd., 2019; Jain vd., 2016).

Kullanılan kapsülleme sistemlerinin likopen korumada etkili olduğu bildirilmiştir. Bir çalışmada, karotenoidce zengin yağ içeren mikrokapsüllerin depolanması, 5 ve 20 °C'de aynı degradasyon sonuçları gösterdiği saptanmıştır (Chuyen vd., 2019).

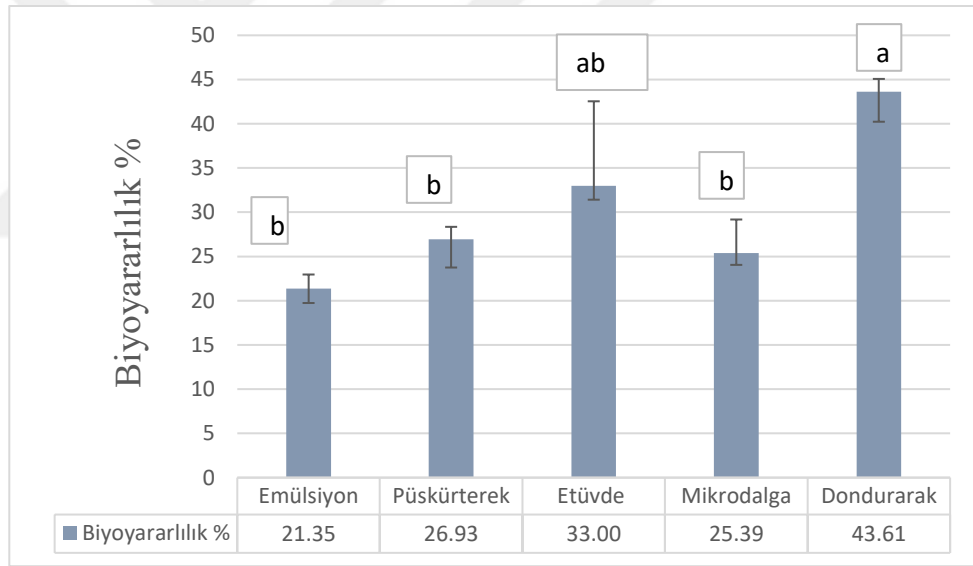
Likopenin degradasyonunu başlatmak için gereken aktivasyon enerjisi 39.68 kJ / mol bulunmuştur. Gibbs serbest enerji aktivasyonu ( $\Delta G$ ) ve entalpi ( $\Delta H$ ) değerleri pozitif olmuştur. Bu da her iki sıcaklıktaki degradasyonun spontan olmadığı ve endotermik bir reaksiyon olduğu anlamına taşımaktadır. Aktivasyon entropisinin ( $\Delta S$ ) negatif değeri, daha öncede ifade edildiği gibi, reaksiyonun entropik olarak uygun olmadığını ve reaktiflerden yapısal olarak daha organize olduğunu göstermektedir.

#### **4.4.4.8. Biyoyararlılık**

Karotenoidler, bağırsak emilimi için mevcut olan mekanik veya enzimatik eylemlerle gıda matrisinden salınır. Bununla birlikte, biyoyararlanımlarını sınırlayabilecek birçok özelliklere sahiptirler. Sudaki zayıf çözünürlüğü ve kristal oluşumuna ek olarak, proteinlerle etkileşimleri sindirimlerini ve dolayısıyla biyoyararlanımlarını azaltır. Kaplama malzemeleri ve farklı kapsülleme sistemleri, bu bileşenlerin kontrollü salınımını verimli bir şekilde artırabilir. Birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmada, salıvermede enkapsülasyonun yüksek verimliliği deneyimlenmiştir (Eun vd., 2020; Soukoulis ve Bohn, 2018).

Genel olarak, kapsülleyici ajanlar mikro besinleri kaplar ve sadece oksijen ve ışık için değil, aynı zamanda enzimlere ve sindirim sisteminin aşırı ortamına karşıda bir dış tabaka oluşturur. Bu, kapsülleyici ajanların çözünürlüğünün varyasyonu ve matris içindeki malzemelerin tüm etkileşimi ile ilişkilendirilebilir (Eun vd., 2020). Ayrıca, kontrollü salımı ve miselizasyonu geliştirmek için kapsülleyiciler ve karotenoidler arasındaki hidrofobik etkileşimin sınırlandırılması gerekir. Ayrıca kaplama, ön enterik enzimlerin ve safra tuzlarının hidrofobik çekirdeğe ulaşmasını ve çözünmesini kısıtlayabilir (Soukoulis ve Bohn, 2018). Hidrojel mikro boncuklar, kuru partiküller, katı lipid taşıyıcılar ve diğerleri gibi karotenoidlerin salınımını kontrol etmek için birçok katı kapsülleme tekniği kullanılmaktadır (Soukoulis ve Bohn, 2018).

Bu çalışmada, likopen dağılmış fındık yağı (kontrol) ve dört kurutulmuş mikrokapsül için gastrointestinal sistem simülasyonu yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.30'ta gösterilmiştir.



Şekil 4.30. Emülsiyon ve kapsüllenmiş likopen tozlarının biyoyararlılığı.

Şekilden de görüldüğü gibi, kontrolde düşük biyoyararlanım değeri (%21.35) saptanmıştır. Püskürterek ve mikrodalgada kurutulan koaservatlar, sırasıyla %26.93 ve %25.39 gibi benzer bir likopen biyoyararlanımı değerleri vermiştir. Liyofilize tozlar (%43.61), ardından etüvde kurutulanlar (%33.00) yüksek değerler göstermiştir. Likopen biyoyararlanımında bu sonuçlar aslında beklenmektedir. Püskürterek kurutulmuş (%70.19) ve mikrodalgada kurutulmuş örneklerin (%78.52) yüksek kapsülleme yeterliliğine rağmen, bağırsak sıvısındaki miktarı düşüktür. Jelatin-pektin-

gam arabik kompleksinden likopenin biyoyararlanımı, kurutma tekniklerinden önemli ölçüde etkilenmiştir. Bu, üretilen mikrokapsüllerin boyut parçacıkları, mikro yapı ve lipidik çekirdekle kapsülleme matrisi arasında ortaya çıkan etkileşim gibi özellikler ile ilişkili olabilir. Dondurarak kurutulan numunelerin partikül boyutu, etüv ve mikrodalgada kurutulan numunelerden daha düşüktü.

Rutz vd. (2017), palm yağı içeren karotenoidleri, kitosan-ksantan ve kitosan-pektin kullanılarak kompleks koaservasyon yöntemi ile kaplamış ve liyofilizasyon ve püskürterek kurutma ile kapsüllemişlerdir. Tüm tozlardan mide sıvısında yüksek oranda karotenoid salınmıştır (%43.10'dan fazla). Bununla birlikte, bazı örneklerde bağırsak sıvısında salınım düşmüştür. Bileşim (kapsülleyici malzeme) ve kurutma tekniklerinin karotenoid salınımını etkileyen ana faktörler olduğunu, parçacık boyut ve şekillerinin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, mikropartiküllerin gıda sistemlerinde, ekmekte ve özellikle yoğurtta uygulanması, karotenoidlerin salınımını ve bunun sonucunda bozunmasını azaltmıştır. Duvar malzemeleri olarak kitosan-karboksimetilselüloz ve kitosan-sodyum tripolifosfat ile yapılan bir çalışmada da (Rutz vd., 2016) benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gıda sistemlerindeki uygulama ile karotenoidlerin salınımı artırılmıştır. Bu, karotenoidler ve gıda matrisleri arasındaki önemli koruma ve olası etkileşimlerle açıklanabilir.

Thakur vd. (2017), kapsüllenmiş  $\beta$ -karoten yağlı dispersiyonunun stabilitesini ve biyoyararlanımını araştırmışlardır. Karmaşık koaservat (guar zımkı-kazein-yağı) ile üretilmiş düşük boyutlu mikropartiküllerin dondurularak kurutulmasıyla yüksek bir  $\beta$ -karoten kapsülleme verimliliği saptamışlardır. Çekirdek materyalinin salınımın yavaş ve sürekli olduğunu, kapsüllemenin gastrointestinal sıvıların etkisini azaltma kabiliyetinde olduğunu kanıtlamışlardır.

Rongli Li vd. (2018), kompleks koaservasyon ile astaksantin oleoresin mikrokapsülleri hazırlamışlardır. Duvar malzemesi olarak jelatin ve sodyum aljinat, kurutma yöntemi olarak liyofilizasyon kullanmışlardır. Duvar malzemesinin bileşimi ve oleoresin oranının, kapsülleme verimliliği, mikro yapı ve mikro partiküllerin boyutu gibi mikrokapsül özelliklerini etkilediğini bildirmişlerdir. Simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvıları kullanılarak biyoyararlanımı araştırdıklarında, astaksantin salınımının asidik ortamda yavaş ve dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada üretilen farklı tozların biyoyararlanımı çeşitli faktörlerden etkilenmiş olabilir. Kapsülleyici ajanların doğası gereği erişilemezlik ve olası düşük çözünürlükleri, lipidik enzim (lipaz) ve safra tuzlarının işlevselliğini azaltmış olabilir. Jain vd. (2020)'nin de vurguladıkları gibi, polimerler lipidik çekirdeği saran koruyucu duvarlardır, ancak dirençleri salınımı olumsuz etkileyebilmektedir. Ayrıca, birçok araştırmacı (Ha vd., 2015; Liang vd., 2021; Zhang vd., 2016) tarafından bildirilen lipidik enzimin (lipaz) yetersizliği, lipidik fazın bileşimi ve damlacık boyutu karotenoidlerin çözünmesini ve bağırsak sıvılarındaki misellerdeki dağılımlarını ve dolayısıyla absorpsiyonlarını etkilemiş olabilir.



## SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, güzyemişi meyvelerinden (*Elaeagnus umbellata*) likopen ekstraksiyonu ve kapsüllenmesini optimize etmek için yapılmıştır.

- Çalışmada ilk olarak, güzyemişi meyvelerinin genel fiziksel ve kimyasal özellikleri saptanmıştır. Bu meyvenin, biyoaktif bileşiklerce zengin olduğu ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, taze ağırlıkta 26 mg/g'dan fazla likopen içerdiği ve likopence zengin bir kaynak olduğu belirlenmiştir. Sonra likopen ekstraksiyonu için optimizasyon çalışmalarına geçilmiştir.
- Likopen ekstraksiyonunda 2 aşamalı optimizasyon yapılmıştır. İlk olarak, en iyi solvent karışımı bulunmuş, sonra farklı ekstraksiyon koşullarının etkisi incelenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları olarak; 1.5:1:1 hekzan:aseton:metanol karışımı, 49°C sıcaklık, 15 dakika ve 1:64 pulp-çözücü oranı belirlenmiştir. Bu koşullarda likopen ekstraksiyonda verimliliği %99'a ulaşmıştır.
- Optimum ekstraksiyon koşulları altında ve güzyemişi meyvesinin %89'a kadar all-trans likopen içerdiği bulunmuştur. Elde edilen ekstraktların, likopene atfedilebilecek önemli derecede antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Fındık yağı içerisine eklenen likopenin ısıl stabilitesi araştırıldığında ısıya duyarlı olduğu, çalışılan sıcaklıklarda (30, 50, 70 ve 90°C), sıcaklık artışıyla likopenin bozunma hızının da hızla arttığı ( $E_a = 24.61$  kJ/mol) tespit edilmiş ve bu hassasiyeti azaltmada kapsülleme uygulamasının etkisini araştırmak amacıyla farklı tekniklerle enkapsülasyon yapılmıştır.
- Basit enkapsülasyonda; kaplayıcı oranı, yağ içeriği ve sıcaklık açısından optimizasyon yapılmış ve kapsülleme yeterliliğinin (% EE) en yüksek olduğu koşullar maltodekstrin: gam arabik oranı 30:70, çekirdek malzeme içeriği %5.4 ve giriş sıcaklığı 155 °C şeklinde saptanmıştır. Basit enkapsülasyon tekniğinde belirlenen optimum şartlarda üretilen tozlar ile aynı emülsiyonun dondurarak, etüvde ve mikrodalgada kurutulmasıyla elde tozların fiziksel (su aktivitesi, suda çözünürlük, yoğunluk, renk, higroskopiklik, partikül boyutu), termal özellikleri (DSC), SEM görüntüleri birbirinden oldukça farklı olduğunu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Bununla birlikte, farklı tozların antioksidan aktivitesi, X-ışını kırınım ve FTIR sonuçları birbirine benzer özellikler göstermiştir. Maltodekstrin ve gam arabik ile kaplanan ve püskürtmeli kurutmayla üretilen

tozların aktivasyon enerjisi ( $E_a=39.95$  kJ/mol) yani likopenin termal stabilitesi daha yüksek bulunmuştur. Düşük sıcaklıkta ( $4^{\circ}\text{C}$ ) depolama,  $25^{\circ}\text{C}$ 'de depolamaya nazaran likopen yarı ömrünü (1386 gün) önemli derecede artırdığı kaydedilmiştir. Biyoyararlılık *in vitro* testleri, kapsüllenmemiş emülsiyondaki likopen ile karşılaştırıldığında enkapsülasyonun etkinliğinin farkını net olarak ortaya koymuştur. Etüvde ve püskürtülerek kurutulan tozlar, yüksek biyoyararlanım değerleri vermişlerdir.

- Koaservasyon tekniği ile yapılan kapsülasyonda, kaplayıcı karışımı (jelatin: pektin: gam arabik) ve çekirdek malzeme içeriği için optimum değerler 1:0.5:0.5 ve %10'luk likopen ile zenginleştirilmiş yağ olarak kaydedilmiş bu koşullarda yüksek kapsülleme yeterliliği (%75) elde edilmiştir. Optimum bu noktada hazırlanan emülsiyon püskürterek, dondurarak, etüvde ve mikrodalgada kurutularak özellikleri incelenmiştir. Püskürterek kurutmada, daha düşük verimi elde edilmiştir. Fiziksel özellikler (su aktivitesi, suda çözünürlük, nem, yoğunluk, renk, higroskopiklik, partikül boyutu) açısından kurutma tekniğinin etkili olduğu saptanmıştır. Termal analiz (DSC), SEM görüntüleri ve FTIR profili, kapsüllemenin başarılı olduğunu göstermiştir. Kompleks koaservasyon tekniği, likopenin termal stabilitesini arttırmış, seçilen jelatin:pektin:gam arabik karışımında yüksek aktivasyon enerjisi ( $E_a=56.34$  kJ/mol) saptanmıştır.  $4^{\circ}\text{C}$ 'deki depolama stabilitesi, likopen tozunun yarı ömrünü 630 güne kadar artırmıştır. Biyoyararlılık *in vitro* sonuçları, koaservasyon sisteminin likopeni mide sıvılarından koruduğunu ve salınımını iyileştirdiğini göstermiştir. Dondurularak kurutulmuş tozlar, ardından etüvde kurutulmuş tozlar, likopen emülsiyonu (kapsüllenmemiş) ile karşılaştırıldığında sırasıyla %43.61 ve %33.00 daha yüksek bir biyoyararlılık değeri göstermiştir.
- Sonuç olarak, likopen ekstraksiyonunun (çözücüler, süre, sıcaklık) optimizasyonu, meyve matrisinden geri kazanımı artırmak için gerekli ve yararlı bir yoldur. Likopenin biyoaktivitesini ve çevresel koşullara karşı stabilitesini korumak için, basit kapsülleme veya karmaşık koaservasyon uygulanması başarılı tekniklerdir. Bunun ötesinde, kapsülleme, biyoaktif bileşimin biyoyararlılığını iyileştirmekte ve salınımını kontrol edebilmektedir.

- Gıda sistemlerinde enkapsüle likopen kullanımı, ürün zenginleştirmede ve insan beslenmesinde fonksiyonel gıdalar üretmede başvurulacak tekniklerden biridir. Yoğurt, ekmek veya kek gibi likopen tozlarının eklenmesiyle yeni ürünlerin geliştirilmesi, insan sağlığı üzerindeki besleyici ve faydalı etkileri artıracaktır.



## KAYNAKLAR

- Aguilar, H., Barlow, S., Castle, L., Crebelli, R., Dekant, W., & Engel, K. (2008). Scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and food contact materials on a request from european commission on safety of aluminium from dietary intake. *The EFSA Journal*, 754, 1-34.
- Ahmad, S., Sabir, S., & Zubair, M. (2006). Ecotypes diversity in autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb): A single plant with multiple micronutrient genes. *Chemistry and Ecology*, 22(6), 509-521.
- Ahmad, S. D., Sabir, M. S., Juma, M., & Asad, H. S. (2005). Morphological and biochemical variations in *Elaeagnus umbellata* Thunb. from mountains of Pakistan. *Acta Botanica Croatica*, 64(1), 121-128.
- Ansari, S., Rashid, M. A. I., Waghmare, P. R., & Nobes, D. S. (2020). Measurement of the flow behavior index of Newtonian and shear-thinning fluids via analysis of the flow velocity characteristics in a mini-channel. *SN Applied Sciences*, 2(11), 1787. doi:10.1007/s42452-020-03561-w
- AOAC. (2012). Association of official analysis chemists. *Official methods of analysis (18th ed.)*. Gaithersburg: AOAC.
- Arab, L., & Steck, S. (2000). Lycopene and cardiovascular disease. *The American J. of Clinical Nutrition*, 71(6), 1691S-1695S.
- Ardawi, M.-S. M., Badawoud, M. H., Hassan, S. M., Rouzi, A. A., Ardawi, J. M., AlNosani, N. M., Qari, M. H., & Mousa, S. A. (2016). Lycopene treatment against loss of bone mass, microarchitecture and strength in relation to regulatory mechanisms in a postmenopausal osteoporosis model. *Bone*, 83, 127-140.
- Ariahu, C., Kamaldeen, O., & Yusufu, M. (2021). Kinetic and thermodynamic studies on the degradation of carotene in carrot powder beads. *Journal of Food Engineering*, 288, 110145.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.*, 73(2), 239-244.
- Ashraf, W., Latif, A., Lianfu, Z., Jian, Z., Chenqiang, W., Rehman, A., Hussain, A., Siddiquy, M., & Karim, A. (2020). Technological advancement in the processing of lycopene: a review. *Food Reviews International*, 1-27. doi:10.1080/87559129.2020.1749653
- Aziz, S., Aziz, S., & Andleeb, S. (2015). Biological screening of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 28(1), 65-71.
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chem.*, 237, 623-631.
- Barba, A. A., Dalmoro, A., d'Amore, M., & Lamberti, G. (2015). Liposoluble vitamin encapsulation in shell-core microparticles produced by ultrasonic atomization and microwave stabilization. *Lwt-Food Science and Technology*, 64(1), 149-156.
- Benassi, M. D. T., & Antunes, A. J. (1988). A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Arq. Biol. Tecnol.*, 507-513.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Ana. Biochemistry*, 239(1), 70-76.

- Biddle, M. J., Lennie, T. A., Bricker, G. V., Kopec, R. E., Schwartz, S. J., & Moser, D. K. (2015). Lycopene dietary intervention: a pilot study in patients with heart failure. *The J. of Cardiovascular Nursing*, 30(3), 205.
- Bilbao-Sainz, C., Sinrod, A. J. G., Dao, L., Takeoka, G., Williams, T., Wood, D., Chiou, B.-S., Bridges, D. F., Wu, V. C. H., Lyu, C., Powell-Palm, M. J., Rubinsky, B., & McHugh, T. (2021). Preservation of grape tomato by isochoric freezing. *Food Research International*, 143, 110228. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110228>
- Black, B. L., Fordham, I. M., & Perkins-Veazie, P. (2005). Autumnberry (*Elaeagnus umbellata*): a potential cash crop. *Journal of the American Pomological Society*, 59(3), 125.
- Blanch, G. P., del Castillo, M. L. R., del Mar Caja, M., Pérez-Méndez, M., & Sánchez-Cortés, S. (2007). Stabilization of all-trans-lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. *Food Chem.*, 105(4), 1335-1341.
- Böhm, V., Fröhlich, K., & Bitsch, R. (2003). Rosehip—a “new” source of lycopene? *Mol Aspects Med*, 24(6), 385-389. doi:10.1016/S0098-2997(03)00034-7
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lwt-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Britton, G. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9(15), 1551-1558. doi:10.1096/fasebj.9.15.8529834
- Bruno, R. S., Wildman, R. E., & Schwartz, S. J. (2007). Lycopene: food sources, properties, and health. *Handbook of nutraceuticals and functional foods*, 2.
- Calvo, T. R. A., Busch, V. M., & Santagapita, P. R. (2017). Stability and release of an encapsulated solvent-free lycopene extract in alginate-based beads. *LWT*, 77, 406-412. doi:10.1016/j.lwt.2016.11.074
- Cano-Higuaita, D., Vélez, H., & Telis, V. (2015a). Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. *Ciência e Agrotecnologia*, 39(2), 173-182.
- Cano-Higuaita, D., Malacrida, C., & Telis, V. (2015b). Stability of curcumin microencapsulated by spray and freeze drying in binary and ternary matrices of maltodextrin, gum arabic and modified starch. *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 2049-2060.
- Carpentier, J., Conforto, E., Chaigneau, C., Vendeville, J.-E., & Maugard, T. (2021). Complex coacervation of pea protein isolate and tragacanth gum: Comparative study with commercial polysaccharides. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 69, 102641.
- Catling, P., Oldham, M., Sutherland, D., Brownell, V., & Larson, B. (1997). The recent spread of autumn-olive, *Elaeagnus umbellata*, into southern Ontario and its current status. *Canadian Field Naturalist. Ottawa ON*, 111(3), 376-380.
- Çelik, H., & Çelik, D. (2017). Effect of cutting time and IBA application on the rooting of autumn olive berry (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) cuttings. *Bahçe*, 46(1), 155-162.
- Çelik, H., & Çil, D. (2021). Effects of Externally Applied IBA Doses on Rooting and Sapling Characteristics of Autumn Olive Berry Cuttings Taken at Different Periods. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 5(1).
- Chandrika, U. G., Fernando, K. S., & Ranaweera, K. K. (2009). Carotenoid content and in vitro bioaccessibility of lycopene from guava (*Psidium guajava*) and watermelon (*Citrullus lanatus*) by high-performance liquid chromatography diode array detection. *Int J Food Sci Nutr*, 60(7), 558-566. doi:10.3109/09637480801987195

- Charpashlo, E., Ghorani, B., & Mohebbi, M. (2021). Multilayered electrospinning strategy for increasing the bioaccessibility of lycopene in gelatin-based sub-micron fiber structures. *Food Hydrocolloids*, 113, 106411.
- Cheng, Y.-S., Lu, P.-M., Huang, C.-Y., & Wu, J.-J. (2017). Encapsulation of lycopene with lecithin and  $\alpha$ -tocopherol by supercritical antisolvent process for stability enhancement. *The Journal of Supercritical Fluids*, 130, 246-252. doi:10.1016/j.supflu.2016.12.021
- Chiu, Y., Chiu, C., Chien, J., Ho, G., Yang, J., & Chen, B. (2007). Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly ( $\gamma$ -glutamic acid) as carrier. *J. Agric. Food Chem.*, 55(13), 5123-5130.
- Chuyen, H. V., Roach, P. D., Golding, J. B., Parks, S. E., & Nguyen, M. H. (2017). Optimisation of extraction conditions for recovering carotenoids and antioxidant capacity from Gac peel using response surface methodology. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(4), 972-980.
- Chuyen, H. V., Roach, P. D., Golding, J. B., Parks, S. E., & Nguyen, M. H. (2019). Encapsulation of carotenoid-rich oil from Gac peel: Optimisation of the encapsulating process using a spray drier and the storage stability of encapsulated powder. *Powder Technology*, 344, 373-379.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Meneguzzo, F., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2016). Lycopene: Emerging Production Methods and Applications of a Valued Carotenoid. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(3), 643-650. doi:10.1021/acssuschemeng.5b01516
- Clinton, S. K. (1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutri. Reviews*, 56(2), 35-51.
- Colle, I. J., Lemmens, L., Tolesa, G. N., Van Buggenhout, S., De Vleeschouwer, K., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2010). Lycopene degradation and isomerization kinetics during thermal processing of an olive oil/tomato emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 58(24), 12784-12789.
- Comunian, T. A., Thomazini, M., Alves, A. J. G., de Matos Junior, F. E., de Carvalho Balieiro, J. C., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Research International*, 52(1), 373-379.
- da Silva Soares, B., de Carvalho, C. W. P., & Garcia-Rojas, E. E. (2021). Microencapsulation of Sacha Inchi Oil by Complex Coacervates using Ovalbumin-Tannic Acid and Pectin as Wall Materials. *Food and Bioprocess Technology*, 1-14.
- DeFreitas, Z., Hall, H., Newman, J., & Gordon, M. (2003). Google Patents.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361-1394. doi:10.1081/Drt-200063478
- Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., & Amiot, M. J. (2007). Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: kinetics and newly formed compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 55(10), 4209-4216.
- Dirr, M. A. (2011). *Dirr's encyclopedia of trees and shrubs*: Timber Press.
- Dubey, R., Shami, T. C., & Rao, K. U. B. (2009). Microencapsulation Technology and Applications. *Defence Science Journal*, 59(1), 82-95. doi:10.14429/dsj.59.1489
- Ebert, G., & Gross, J. (1985). Carotenoid Changes in the Peel of Ripening Persimmon (Diospyros-Kaki) Cv Triumph. *Phytochemistry*, 24(1), 29-32. doi:10.1016/S0031-9422(00)80801-8

- Eun, J.-B., Maruf, A., Das, P. R., & Nam, S.-H. (2020). A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying. *Critical Reviews in Food Sci and Nutri.*, 60(21), 3547-3572.
- Fish, W. W., Perkins-Veazie, P., & Collins, J. K. (2002). A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(3), 309-317.
- Fordham, I. M., Clevidence, B. A., Wiley, E. R., & Zimmerman, R. H. (2001). Fruit of Autumn olive: A rich source of lycopene. *HortScience*, 36(6), 1136-1137. doi:10.21273/Hortsci.36.6.1136
- Fordham, I. M., Zimmerman, R. H., Black, B. L., Clevidence, B. M., & Wiley, E. R. (2002). *Autumn olive: A potential alternative crop*. Paper presented at the XXVI International Horticultural Congress: Berry Crop Breeding, Production and Utilization for a New Century 626.
- Franke, M. E., Zipper, C., & Barney, J. N. (2018). Native hardwood tree seedling establishment following invasive autumn-olive (*Elaeagnus umbellata*) removal on a reclaimed coal mine. *Invasive Plant Science and Management*, 11(3), 155-161.
- Gamba, G., Donno, D., Mellano, M. G., Riondato, I., De Biaggi, M., Randriamampionona, D., & Beccaro, G. L. (2020). Phytochemical characterization and bioactivity evaluation of autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) pseudodrupes as potential sources of health-promoting compounds. *Applied Sciences*, 10(12), 4354.
- García-Saldaña, J. S., Campas-Baypoli, O. N., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Cantú-Soto, E. U., & Rodríguez-Ramírez, R. (2016). Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. *Food Chem.*, 201, 94-100.
- Gerster, H. (1997). The potential role of lycopene for human health. *Journal of the American College of Nutrition*, 16(2), 109-126.
- Ghellam, M., Zannou, O., Pashazadeh, H., Galanakis, C. M., Aldawoud, T., Ibrahim, S. A., & Koca, I. (2021). Optimization of osmotic dehydration of autumn olive berries using response surface methodology. *Foods*, 10(5), 1075.
- Gheonea, I., Aprodu, I., Cîrciumaru, A., Râpeanu, G., Bahrim, G. E., & Stănciuc, N. (2021). Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. *Journal of Food Engineering*, 288, 110166.
- Ghosh, D., & Biswas, P. K. (2016). Enzyme-Aided Extraction of Carotenoids from Pumpkin Tissues. *Indian Chemical Engineer*, 58(1), 1-11. doi:10.1080/00194506.2015.1046697
- Ghosh, S. K. (2006). Functional coatings and microencapsulation: a general perspective. *Functional coatings*, 1-28. doi:10.1002/3527608478.ch1
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. N. M. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *Int J Food Sci Nutr*, 50(3), 213-224. doi:10.1080/096374899101256
- Gomez-Estaca, J., Comunian, T., Montero, P., Ferro-Furtado, R., & Favaro-Trindade, C. (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.
- Gong, M., & Bassi, A. (2016). Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnol Adv*, 34(8), 1396-1412. doi:10.1016/j.biotechadv.2016.10.005

- Goñi, I., Serrano, J., & Saura-Calixto, F. (2006). Bioaccessibility of  $\beta$ -carotene, lutein, and lycopene from fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 54(15), 5382-5387.
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2012). A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Drying Technology*, 30(6), 641-652.
- Gupta, M., Panizai, M., Tareen, M. F., Ortega-Martinez, S., & Doreulee, N. (2018). An overview on novel antioxidant and anti-cancer properties of lycopene: A comprehensive review. *GMJ Medicine*, 2(1), 45-50.
- Ha, T. V. A., Kim, S., Choi, Y., Kwak, H.-S., Lee, S. J., Wen, J., Oey, I., & Ko, S. (2015). Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract. *Food Chem.*, 178, 115-121.
- Helyes, L., Brandt, S., Réti, K., Barna, E., & Lugasi, A. (2003). *Appreciation and analysis of lycopene content of tomato*. Paper presented at the International Conference on Quality in Chains. An Integrated View on Fruit and Vegetable Quality 604.
- Henry, L., Catignani, G., & Schwartz, S. (1998). Oxidative degradation kinetics of lycopene, lutein, and 9-cis and all-trans  $\beta$ -carotene. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(7), 823-829.
- Ho, L. Y., Lim, Y. Y., Tan, C. P., & Siow, L. F. (2020). Effects of spray-, oven-, and freeze drying on the physicochemical properties of poorly aqueous-soluble xanthone encapsulated by coacervation: A comparative study. *Drying Technology*, 1-11.
- Hua, Y., Xu, N., Ma, T., Liu, Y., Xu, H., & Lu, Y. (2019). Anti-inflammatory effect of lycopene on experimental spinal cord ischemia injury via cyclooxygenase-2 suppression. *Neuroimmunomodulation*, 26(2), 84-92.
- Hussain, I. (2011). Physicochemical and sensory characteristics of *Elaeagnus umbellata* (Thunb) fruit from Rawalakot (Azad Kashmir) Pakistan. *Afr. J. Food Sci.*, 2, 151-156.
- Iannuzzi, A. M., Giacomelli, C., De Leo, M., Pietrobono, D., Camangi, F., De Tommasi, N., Martini, C., Trincavelli, M. L., & Braca, A. (2020). Antioxidant activity of compounds isolated from *Elaeagnus umbellata* promotes human gingival fibroblast well-being. *J. Nat. Prod.*, 83(3), 626-637.
- Ishaq, S. (2013). *Effect of preservation techniques on the physico-chemical composition and antioxidant activity of edible plants (Elaeagnus umbellata, Sonchus oleraceus, Mentha longifolia) from poonch azad jammu & kashmir*. University of Azad Jammu and Kashmir Muzaffarabad, Pakistan,
- Ishaq, S., Rathore, H. A., Sabir, S. M., & Maroof, M. S. (2015). Antioxidant properties of *Elaeagnus umbellata* berry solvent extracts against lipid peroxidation in mice brain and liver tissues. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 673-679.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katore, O., & Shivhare, U. (2016). Characterization of microcapsulated  $\beta$ -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 101-113.
- Jain, S., Winuprasith, T., & Supphantharika, M. (2020). Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. *Food Hydrocolloids*, 104, 105730.
- Jhan, S., & Pethe, A. M. (2020). Double-loaded liposomes encapsulating lycopene  $\beta$ -cyclodextrin complexes: Preparation, optimization, and evaluation. *J. Liposome Res.*, 30(1), 80-92.
- Jiang, L.-N., Liu, Y.-B., & Li, B.-H. (2019). Lycopene exerts anti-inflammatory effect to inhibit prostate cancer progression. *Asian J. Androl.*, 21(1), 80.

- Jyothi, N. V., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *J. Microencapsul.*, 27(3), 187-197. doi:10.3109/02652040903131301
- Karrar, E., Mahdi, A. A., Sheth, S., Ahmed, I. A. M., Manzoor, M. F., Wei, W., & Wang, X. (2021). Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurun seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 171, 208-216.
- Kaur, D., Wani, A. A., Oberoi, D., & Sogi, D. (2008). Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. *Food Chem.*, 108(2), 711-718.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., Roach, P. D., & Stathopoulos, C. E. (2014). Microencapsulation of gac oil by spray drying: optimization of wall material concentration and oil load using response surface methodology. *Drying Technology*, 32(4), 385-397.
- Khattak, K. F. (2012). Free radical scavenging activity, phytochemical composition and nutrient analysis of *Elaeagnus umbellata* berry. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(39), 5196-5203.
- Kim, J.-I., Baek, H.-J., Han, D.-W., & Yun, J.-A. (2019). Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) berry reduces fasting and postprandial glucose levels in mice. *Nutr Res Pract*, 13(1), 11-16.
- Kissel, T., Maretschek, S., Packhauser, C., Schnieders, J., & Seidel, N. (2006). Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. *Microencapsulation. Methods and Industrial Applications*, 99-122.
- Kömüroğlu, A. U., Yur, F., & Ekin, İ. H. (2018). Influence of lycopene administration on neopterin, myeloperoxidase and gamma glutamyl transferase in diabetic rats. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(6).
- Kong, K., & Ismail, A. (2011). Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from *Psidium guajava* fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), 53-61. doi:10.1016/j.fbp.2010.02.004
- Kong, K. W., Ismail, A., Tan, C. P., & Rajab, N. F. (2010). Optimization of oven drying conditions for lycopene content and lipophilic antioxidant capacity in a by-product of the pink guava puree industry using response surface methodology. *Lwt-Food Science and Technology*, 43(5), 729-735. doi:10.1016/j.lwt.2009.10.011
- Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 95-102.
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chem.*, 194, 569-576.
- Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., & Tavman, S. (2014). Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *JFST*, 51(12), 4102-4107.
- Kunthakudee, N., Sunsandee, N., Chutvirasakul, B., & Ramakul, P. (2020). Extraction of lycopene from tomato with environmentally benign solvents: Box-Behnken design and optimization. *Chemical Engineering Communications*, 207(4), 574-583. doi:10.1080/00986445.2019.1610882
- Lago, C. C., & Noreña, C. P. Z. (2017). Thermodynamic and kinetics study of phenolics degradation and color of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) microparticles under accelerated storage conditions. *JFST*, 54(13), 4197-4204.

- Lan, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Phase behavior and complex coacervation of concentrated pea protein isolate-beet pectin solution. *Food Chem.*, 307, 125536.
- Lan, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2021). Microencapsulation of hemp seed oil by pea protein isolate– sugar beet pectin complex coacervation: Influence of coacervation pH and wall/core ratio. *Food Hydrocolloids*, 113, 106423.
- Lee, J.-H., Lee, B., Jeon, Y.-D., Song, H.-W., & Lee, Y.-M. (2021). Inhibitory Effect of *Elaeagnus umbellata* Fractions on Melanogenesis in  $\alpha$ -MSH-Stimulated B16-F10 Melanoma Cells. *Molecules*, 26(5), 1308.
- Lee, M., & Chen, B. (2002). Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chem.*, 78(4), 425-432.
- Lee, S. J., & Wong, M. (2014). Nano-and microencapsulation of phytochemicals. In *Nano and Microencapsulation for foods* (pp. 117-165): Wiley Online Library.
- Li, D., Li, L., Xiao, N., Li, M., & Xie, X. (2018). Physical properties of oil-in-water nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch for the encapsulation of lycopene. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 552, 59-66.
- Li, R., Chen, R., Liu, W., Qin, C., & Han, J. (2018). Preparation of enteric-coated microcapsules of astaxanthin oleoresin by complex coacervation. *Pharmaceutical Development and Tech.*, 23(7), 674-681.
- Lianfu, Z., & Zelong, L. (2008). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrason SonoChem.*, 15(5), 731-737.
- Liang, X., Yan, J., Guo, S., McClements, D. J., Ma, C., Liu, X., & Liu, F. (2021). Enhancing lycopene stability and bioaccessibility in homogenized tomato pulp using emulsion design principles. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, 102525.
- Lopez-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Valenzuela-Sánchez, K. P., Núñez-Gastélum, J. A., Escárcega-Galaz, A. A., & Rodríguez-Ramírez, R. (2014). Effect of solvents and methods of stirring in extraction of lycopene, oleoresin and fatty acids from over-ripe tomato. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 65(2), 187-193. doi:10.3109/09637486.2013.839630
- Lowe, G. M., Graham, D. L., & Young, A. J. (2018). Lycopene: chemistry, metabolism, and bioavailability. In *Lycopene and Tomatoes in Human Nutrition and Health* (pp. 1-20): CRC Press.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1), 1-21.
- Madhavi, D. L., & Kagan, D. I. (2008). Google Patents.
- Mansour, M., Salah, M., & Xu, X. (2020). Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. *Ultrason SonoChem.*, 63, 104927.
- Mantzouridou, F., & Tsimidou, M. Z. (2008). Lycopene formation in *Blakeslea trispora*. Chemical aspects of a bioprocess. *Trends Food Sci. Technol.*, 19(7), 363-371.
- Mao, Y., & McClements, D. J. (2012). Influence of electrostatic heteroaggregation of lipid droplets on their stability and digestibility under simulated gastrointestinal conditions. *Food and Function*, 3(10), 1025-1034.
- Markus, A., & Linder, C. (2006). *Advances in the technology for controlled-release pesticide formulations*: CRC Press: Boca Raton, FL.

- Matioli, G., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2003). Microencapsulation of lycopene with cyclodextrins. *Food Science and Technology*, 23, 102-105. doi:10.1590/S0101-20612003000400019
- Mayer-Miebach, E., & Spiess, W. E. L. (2003). Influence of cold storage and blanching on the carotenoid content of Kintoki carrots. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 211-213. doi:10.1016/S0260-8774(02)00253-4
- Meirowitz, R. (2019). Microencapsulation technology for coating and laminating. *Smart Textile Coatings and Laminates, 2nd Edition*, 117-154. doi:10.1016/B978-0-08-102428-7.00005-5
- Montero, P., Calvo, M., Gómez-Guillén, M., & Gómez-Estaca, J. (2016). Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. *LWT*, 70, 229-236.
- Montiel-Ventura, J., Luna-Guevara, J., Tornero-Campante, M., Delgado-Alvarado, A., & Luna-Guevara, M. (2018). Study of encapsulation parameters to improve content of lycopene in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) powders. *Acta Alimentaria*, 47(2), 135-142.
- Munde, P. J., Muley, A. B., Ladole, M. R., Pawar, A. V., Talib, M. I., & Parate, V. R. (2017). Optimization of pectinase-assisted and tri-solvent-mediated extraction and recovery of lycopene from waste tomato peels. *3 Biotech*, 7(3), 1-10.
- Mussagy, C. U., Winterburn, J., Santos-Ebinuma, V. C., & Pereira, J. F. B. (2019). Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. *Appl Microbiol Biot*, 103(3), 1095-1114. doi:10.1007/s00253-018-9557-5
- Nagal, S., Kaur, C., Choudhary, H., Singh, J., Bhushan Singh, B., & Singh, K. N. (2012). Lycopene content, antioxidant capacity and colour attributes of selected watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars grown in India. *Int J Food Sci Nutr*, 63(8), 996-1000. doi:10.3109/09637486.2012.694848
- Nazir, N., Zahoor, M., Uddin, F., & Nisar, M. (2021). Chemical composition, in vitro antioxidant, anticholinesterase, and antidiabetic potential of essential oil of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *BMC Complement. Med. Ther.*, 21(1), 1-13.
- Nazir, N., Zahoor, M., Nisar, M., Khan, I., Karim, N., Abdel-Halim, H., & Ali, A. (2018). Phytochemical analysis and antidiabetic potential of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) in streptozotocin-induced diabetic rats: pharmacological and computational approach. *BMC Complement. Altern. Med.*, 18(1), 332. doi:10.1186/s12906-018-2381-8
- Nazir, N., Zahoor, M., Nisar, M., Karim, N., Latif, A., Ahmad, S., & Uddin, Z. (2020). Evaluation of neuroprotective and anti-amnesic effects of *Elaeagnus umbellata* Thunb. On scopolamine-induced memory impairment in mice. *BMC Complement. Med. Ther.*, 20, 1-17.
- Norkaew, O., Thitisut, P., Mahatheeranont, S., Pawin, B., Sookwong, P., Yodpitak, S., & Lungkaphin, A. (2019). Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. *Food Chem.*, 294, 493-502.
- Nunes, I. L., & Mercadante, A. Z. (2007). Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(5), 893-900. doi:10.1590/S1516-89132007000500018
- Oberoi, D. P. S., & Sogi, D. S. (2017). Utilization of watermelon pulp for lycopene extraction by response surface methodology. *Food Chem.*, 232, 316-321. doi:10.1016/j.foodchem.2017.04.038

- Olempska-Beer, Z. (2006). *Lycopene (Synthetic)*. Chemical and Technical Assessment (CTA) Retrieved from <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/67/lycopene.pdf>
- Opara, U. L., Al-Ani, M. R., & Al-Rahbi, N. M. (2012). Effect of fruit ripening stage on physico-chemical properties, nutritional composition and antioxidant components of tomato (*Lycopersicum esculentum*) cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 3236-3243. doi:10.1007/s11947-011-0693-5
- Özen, T., Yenigun, S., Altun, M., & Demirtas, I. (2017). Phytochemical constituents, ChEs and urease Inhibitions, antiproliferative and antioxidant properties of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 20(6), 559-578.
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chem.*, 272, 494-506. doi:10.1016/j.foodchem.2018.07.205
- Pandya, D., Akbari, S., Bhatt, H., & Joshi, D. (2017). Standardization of solvent extraction process for Lycopene extraction from tomato pomace. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 2(1), 00019.
- Patel, S. (2015). Plant genus *Elaeagnus*: underutilized lycopene and linoleic acid reserve with permaculture potential. *Fruits*, 70(4), 191-199.
- Pei, R., Yu, M., Bruno, R., & Bolling, B. W. (2015). Phenolic and tocopherol content of autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) berries. *Journal of Functional Foods*, 16, 305-314.
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782.
- Pelissari, J. R., Souza, V. B., Pigoso, A. A., Tulini, F. L., Thomazini, M., Rodrigues, C. E., Urbano, A., & Favaro-Trindade, C. S. (2016). Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: Structural characteristics of particles and lycopene stability. *Food and Bioprocess Processing*, 98, 86-94.
- Pérez-Masiá, R., Lagaron, J. M., & Lopez-Rubio, A. (2015). Morphology and stability of edible lycopene-containing micro-and nanocapsules produced through electrospraying and spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 459-470.
- Periago, M. J., Rincon, F., Agüera, M. D., & Ros, G. (2004). Mixture approach for optimizing lycopene extraction from tomato and tomato products. *J. Agric. Food Chem.*, 52(19), 5796-5802.
- Perkins-Veazie, P., Black, B., Fordham, I., & Howard, L. (2005). Lycopene and total phenol content of autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) selections. *HortScience*, 40(3), 883f-884.
- Pierre, F.-X., Souchon, I., Athes-Dutour, V., & Marin, M. (2002). Membrane-based solvent extraction of sulfur aroma compounds: influence of operating conditions on mass transfer coefficients in a hollow fiber contactor. *Desalination*, 148(1), 199-204. doi:10.1016/S0011-9164(02)00698-7
- Poojary, M. M., & Passamonti, P. (2015a). Optimization of extraction of high purity all-trans-lycopene from tomato pulp waste. *Food Chem.*, 188, 84-91.
- Poojary, M. M., & Passamonti, P. (2015b). Extraction of lycopene from tomato processing waste: kinetics and modelling. *Food Chem.*, 173, 943-950.
- Potter, T. L. (1995). Floral volatiles of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Journal of Essential Oil Research*, 7(4), 347-354.
- Rababah, T. M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., & Yang, W. (2010). Optimization of extraction conditions of total phenolics, antioxidant activities, and anthocyanin of

- oregano, thyme, terebinth, and pomegranate. *J. Food Sci.*, 75(7), C626-C632. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01756.x
- Rahimpour, S., & Dinani, S. T. (2018). Lycopene extraction from tomato processing waste using ultrasound and cell-wall degrading enzymes. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2394-2403.
- Ranveer, R. C., Gatade, A. A., Kamble, H. A., & Sahoo, A. K. (2015). Microencapsulation and storage stability of lycopene extracted from tomato processing waste. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58, 953-960.
- Rao, A., & Agarwal, S. (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res*, 19(2), 305-323.
- Rao, A. V., Waseem, Z., & Agarwal, S. (1998). Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Food Research International*, 31(10), 737-741. doi:10.1016/S0963-9969(99)00053-8
- Ravi, H., & Baskaran, V. (2015). Biodegradable chitosan-glycolipid hybrid nanogels: A novel approach to encapsulate fucoxanthin for improved stability and bioavailability. *Food Hydrocolloids*, 43, 717-725.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rocha-Selmi, G. A., Favaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. (2013a). Morphology, stability, and application of lycopene microcapsules produced by complex coacervation. *Journal of Chemistry*, 2013.
- Rocha-Selmi, G. A., Bozza, F. T., Thomazini, M., Bolini, H. M., & Fávoro-Trindade, C. S. (2013b). Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food Chem.*, 139(1-4), 72-78.
- Rocha, C. E., Roehrs, R., & Roehrs, M. (2015). Chemistry, sources and benefits of lycopene. In *Lycopene, Food Sources, Potential Role In Human Health And Antioxidant Effects*. (pp. 105): Nova Science Publishers. .
- Rocha, G. A., Fávoro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioprocess Technology*, 90(1), 37-42.
- Rutz, J. K., Borges, C. D., Zambiazzi, R. C., da Rosa, C. G., & da Silva, M. M. (2016). Elaboration of microparticles of carotenoids from natural and synthetic sources for applications in food. *Food Chem.*, 202, 324-333.
- Rutz, J. K., Borges, C. D., Zambiazzi, R. C., Crizel-Cardozo, M. M., Kuck, L. S., & Noreña, C. P. (2017). Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. *Food Chem.*, 220, 59-66.
- Sabir, M. S., Ahmad, D. S., Imtiaz, H., & Tahir, K. M. (2007). Antibacterial activity of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) a medicinal plant from Pakistan. *Saudi Med. J*, 28(2), 259.
- Sabir, S., & Riaz, K. (2005). Morphological, biochemical and elemental analysis of *Elaeagnus umbellata*, a multipurpose wild shrub from Pakistan. *Journal of Applied Horticulture*, 7(2), 113-116.

- Sabir, S. M., & Ahmad, S. D. (2010). 16 functional foods based on sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *turkestanica*) and autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) berries nutritive value and health benefits. *Functional Foods of the East*, 399.
- Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). Rapid extraction of lycopene and  $\beta$ -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *J. Food Sci.*, 55(5), 1460-1461. doi:10.1111/j.1365-2621.1990.tb03958.x
- Sadler, G. D., & Murphy, P. A. (2010). pH and titratable acidity. In *Food Analysis* (pp. 219-238): Springer.
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *JFST*, 47(6), 587-597.
- Saini, R. K., Assefa, A. D., & Keum, Y. S. (2017). Fatty acid and carotenoid composition of bitter melon (*Momordica charantia* L.) seed arils: a potentially valuable source of lycopene. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1266-1273. doi:10.1007/s11694-017-9504-7
- Sakamura, F., & Suga, T. (1987). Changes in chemical components of ripening oleaster fruits. *Phytochemistry*, 26(9), 2481-2484.
- Sandei, L. (2018). Lycopene and tomatoes. In *Lycopene and Tomatoes in Human Nutrition and Health* (pp. 149-178): CRC Press.
- Sanguansri, L., & Augustin, M. A. (2010). Microencapsulation in functional food product development. In *Functional Food Product Development* (Vol. 1, pp. 1-23): Wiley Online Library.
- Sengül, M., Ertugay, M. F., & Sengül, M. (2005). Rheological, physical and chemical characteristics of mulberry pekmez. *Food Control*, 16(1), 73-76.
- Sgherri, C., Pérez-López, U., & Pinzino, C. (2015). Antioxidant properties of food products containing lycopene are increased by the presence of chlorophyll. In J. R. Bailey (Ed.), *Lycopene: Food Sources, Potential Role in Human Health and Antioxidant Effects* (pp. 39-90). New York: Nova Science Publishers, inc.
- Shaddel, R., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Hamishehkar, H., Fathi-Achachlouei, B., & Huang, Q. (2018). Double emulsion followed by complex coacervation as a promising method for protection of black raspberry anthocyanins. *Food Hydrocolloids*, 77, 803-816.
- Shahidi, F., & Brown, J. A. (1998). Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Critical Reviews in Food Science*, 38(1), 1-67.
- Shariffa, Y. N., Tan, T. B., Abas, F., Mirhosseini, H., Nehdi, I. A., & Tan, C. P. (2016). Producing a lycopene nanodispersion: The effects of emulsifiers. *Food and Bioprocess Technology*, 98, 210-216.
- Sharmin, T., Ahmed, N., Hossain, A., Hosain, M. M., Mondal, S. C., Haque, M. R., Almas, M., & Siddik, A. (2016). Extraction of bioactive compound from some fruits and vegetables (pomegranate peel, carrot and tomato). *American Journal of Food and Nutrition*, 4(1), 8-19.
- Shi, X. F., Xu, Y., Li, Y. H., Zeng, H. X., & Sun, Y. H. (2012). *Optimization of extraction process of lycopene from Watermelon (Citrullus lanatus) by response surface methodology*. Paper presented at the Applied Mechanics and Materials.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664-669.

- Silva, D., Favaro-Trindade, C., Rocha, G., & Thomazini, M. (2012a). Microencapsulation of lycopene by gelatin–pectin complex coacervation. *J. Food Process. Preserv.*, 36(2), 185-190.
- Silva, D., Favaro-Trindade, C., Rocha, G., & Thomazini, M. (2012b). Microencapsulation of lycopene by gelatin–pectin complex coacervation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(2), 185-190. doi:10.1111/j.1745-4549.2011.00575.x
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sojak, M. J., Jaros, M., & Glowacki, S. (2014). Analysis of Giant Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Quality Parameters in Various Technologies of Convective Drying After Long-Term Storage. *Drying Technology*, 32(1), 106-116. doi:10.1080/07373937.2013.816854
- Soley, N. M., & Sipes, S. D. (2021). Reproductive biology and pollinators of the invasive shrub Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunberg). *Plant Species Biology*, 36(2), 170-186.
- Soukoulis, C., & Bohn, T. (2018). A comprehensive overview on the micro-and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Critical Reviews in Food Sci and Nutri.*, 58(1), 1-36.
- Souza, A. L., Hidalgo-Chávez, D. W., Pontes, S. M., Gomes, F. S., Cabral, L. M., & Tonon, R. V. (2018). Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. *LWT*, 91, 286-292.
- Spínola, V., Pinto, J., Llorent-Martínez, E. J., & Castilho, P. C. (2019). Changes in the phenolic compositions of *Elaeagnus umbellata* and *Sambucus lanceolata* after in vitro gastrointestinal digestion and evaluation of their potential anti-diabetic properties. *Food Research International*, 122, 283-294.
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Med.*, 24(6), 345-351.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011). Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chem.*, 129(3), 747-752.
- Takeoka, G. R., Dao, L., Flessa, S., Gillespie, D. M., Jewell, W. T., Huebner, B., Bertow, D., & Ebeler, S. E. (2001). Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 49(8), 3713-3717.
- Thakur, D., Jain, A., Ghoshal, G., Shivhare, U., & Katore, O. (2017). Microencapsulation of  $\beta$ -carotene based on casein/guar gum blend using zeta potential-yield stress phenomenon: An approach to enhance photo-stability and retention of functionality. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1447-1459.
- Tontul, I., & Topuz, A. (2015). Microencapsulation of Plant Oils Rich in Alpha-Linolenic Acid: Effect of Processing Parameters. In *Microencapsulation and Microspheres for Food Applications* (pp. 253-269): Elsevier.
- Tripathi, P., Blaggana, V., Upadhyay, P., Jindal, M., Gupta, S., & Nishat, S. (2019). Antioxidant therapy (lycopene and green tea extract) in periodontal disease: a promising paradigm. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 23(1), 25.
- Turchiuli, C., Munguia, M. J., Sanchez, M. H., Ferre, H. C., & Dumoulin, E. (2014). Use of different supports for oil encapsulation in powder by spray drying. *Powder Technology*, 255, 103-108.

- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M.-E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M., & Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 29-35.
- Türk Gıda Kodeksi. (2013). Gıda katkı maddeleri yönetmeliği. (28693), 30.
- Tuyen, C. K., Nguyen, M. H., Roach, P. D., & Stathopoulos, C. E. (2014). Microencapsulation of Gac oil: Optimisation of spray drying conditions using response surface methodology. *Powder Technology*, 264, 298-309.
- USDA. (2021). Plants Database: Autumn olive. Plants Database. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Retrieved 09/06/2021, from <https://plants.sc.egov.usda.gov/home/plantProfile?symbol=ELUM>
- Vila, J., Gines, P., Rilo, E., Cabeza, O., & Varela, L. (2006). Great increase of the electrical conductivity of ionic liquids in aqueous solutions. *Fluid Ph. Equilibria*, 247(1-2), 32-39.
- Wall, M. M. (2006). Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 434-445. doi:10.1016/j.jfca.2006.01.002
- Wang, S. Y., & Fordham, I. M. (2007). Differences in chemical composition and antioxidant capacity among different genotypes of Autumn Olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.). *Food Technology and Biotechnology*, 45(4).
- Wanyi, W., Lu, L., Zehan, H., & Xinan, X. (2020). Comparison of emulsifying characteristics of different macromolecule emulsifiers and their effects on the physical properties of lycopene nanoemulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 41(4), 618-627.
- Wen Jia, X., Yu Qin, Z., Xin Xu, J., Hua Kong, B., Liu, Q., & Wang, H. (2020). Preparation and characterization of pea protein isolate-pullulan blend electrospun nanofiber films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, 641-647.
- Wu, M.-C., Hu, H.-T., Yang, L., & Yang, L. (2011). Proteomic analysis of up-accumulated proteins associated with fruit quality during autumn olive (*Elaeagnus umbellata*) fruit ripening. *J. Agric. Food Chem.*, 59(2), 577-583.
- Xianquan, S., Shi, J., Kakuda, Y., & Yueming, J. (2005). Stability of lycopene during food processing and storage. *J. Med. Food*, 8(4), 413-422.
- Xu, X., Zheng, Y., Ye, H., & Jin, L. (2019). Lycopene supplementation decreases oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy: An open-label, randomized controlled clinical trial. *European Journal of Inflammation*, 17, 2058739218822864.
- Xue, F., Li, C., Liu, Y., Zhu, X., Pan, S., & Wang, L. (2013). Encapsulation of tomato oleoresin with zein prepared from corn gluten meal. *Journal of Food Engineering*, 119(3), 439-445.
- Yan, C., & Zhang, W. (2014). Coacervation processes. In *Microencapsulation In The Food Industry* (pp. 125-137): Elsevier.
- Yilmaz, S., Kaya, E., Karaca, A., & Karatas, O. (2018). Aflatoxin B1 induced renal and cardiac damage in rats: protective effect of lycopene. *Res Vet Sci*, 119, 268-275.
- Yin, Y., Zheng, Z., & Jiang, Z. (2019). Effects of lycopene on metabolism of glycolipid in type 2 diabetic rats. *Biomed. Pharmacother.*, 109, 2070-2077.
- Zannou, O., Pashazadeh, H., Ghellam, M., Hassan, A. M., & Koca, I. (2021). Optimization of drying temperature for the assessment of functional and physical characteristics of autumn olive berries. *J. Food Process. Preserv.*, e15658.

- Zardini, A. A., Mohebbi, M., Farhoosh, R., & Bolurian, S. (2018). Production and characterization of nanostructured lipid carriers and solid lipid nanoparticles containing lycopene for food fortification. *JFST*, 55(1), 287-298.
- Zglińska, K., Niemiec, T., Łozicki, A., Matusiewicz, M., Szczepaniak, J., Puppel, K., Kutwin, M., Jaworski, S., Rygało-Galewska, A., & Koczoń, P. (2021). Effect of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) fruit extract on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative and inflammatory responses in normal fibroblast cells. *PeerJ*, 9, e10760.
- Zhang, L.-H., Xu, X.-D., Shao, B., Shen, Q., Zhou, H., Hong, Y.-M., & Yu, L.-M. (2015). Physicochemical properties and bioavailability of lutein microencapsulation (LM). *Food Science and Technology Research*, 21(4), 503-507.
- Zhang, Z., Zhang, R., & McClements, D. J. (2016). Encapsulation of  $\beta$ -carotene in alginate-based hydrogel beads: Impact on physicochemical stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 61, 1-10.
- Zhao, C., Wei, L., Yin, B., Liu, F., Li, J., Liu, X., Wang, J., & Wang, Y. (2020). Encapsulation of lycopene within oil-in-water nanoemulsions using lactoferrin: Impact of carrier oils on physicochemical stability and bioaccessibility. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 912-920.
- Zhao, D., Kim, S.-M., Pan, C.-H., & Chung, D. (2014). Effects of heating, aerial exposure and illumination on stability of fucoxanthin in canola oil. *Food Chem.*, 145, 505-513.
- Zhao, Y., Khalid, N., Shu, G., Neves, M. A., Kobayashi, I., & Nakajima, M. (2019). Complex coacervates from gelatin and octenyl succinic anhydride modified kudzu starch: Insights of formulation and characterization. *Food Hydrocolloids*, 86, 70-77.
- Zuanon, L. A. C., Malacrida, C. R., & Telis, V. R. N. (2013). Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin–gum arabic. *Journal of Food Process Engineering*, 36(3), 364-373.
- Zuorro, A. (2020). Enhanced lycopene extraction from tomato peels by optimized mixed-polarity solvent mixtures. *Molecules*, 25(9), 2038.

